

M Klopstock und A. Kowarski

Praktikum

der klinischen chemischen,
mikroskopischen und bakteriologischen

Untersuchungsmethoden

Zwölfte Auflage

bearbeitet von

A Kowarski
Berlin

Mit 63 Abbildungen im Text und 25 farbigen Tafeln



Urban & Schwarzenberg / Berlin und Wien 1938

Alle Rechte einschließlich des Rechtes der Übersetzung in die russische Sprache
vorbehalten

Printed in Austria

Copyright 1936 by Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien

Übersicht über das Arbeitsgebiet gehen Da das Buch in erster Reihe für den praktischen Arzt bestimmt ist, dürfen wir bei der Schilderung eine elementare chemische und bakteriologische Vorbildung voraussetzen Aus dem gleichen Grunde ist bei der Auswahl der Untersuchungsmethoden ganz besonders dem Bedürfnis der alltäglichen Praxis Rechnung getragen. Wo es möglich war, sind die einfachsten und am schnellsten ausführbaren Methoden gewählt worden

Die Verfasser

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Bakteriologische Untersuchung der Sekrete und Beläge des Mundes und Rachens	1—18
Gewinnung des Untersuchungsmaterials 1 Morphologische und funktionelle Eigenschaften der Diphtheriebacillen 1 Kulturelle Eigenschaften 3 Tierversuch 5 Differentialdiagnose 6 Gang der Untersuchung 8 Soor 12 Angina Vincenti 12 Stomatitis ulcerosa 14 Noma 14 Meningokokken 14	
II Bakteriologische Untersuchung des Nasensekretes	18—20
Diphtheriebacillen 19 Leprabacillen 19 Tuberkelbacillen 19 Diplobacillus Friedländer 19.	
III Bakteriologische Untersuchung des Conjunctivalsekretes	20—22
Diphtheriebacillen, Tuberkelbacillen 20 Gonokokken 20. Koch-Weeksche Bacillen, Diplobacillus Morax Axenfeld und andere Erreger von Blindehautkatarrhen 20—22	
IV Untersuchung des Sputums	22—35
Gewinnung des Untersuchungsmaterials 22 Allgemeine Eigenschaften 22 Besonders hervortretende Bestandteile 24 Mikroskopische Untersuchung 26 Curschmannsche Spiralen 26 Fibringerinnung 27 Gewebefetzen 28. Dittrichsche Pfropfe Tonsillarpfropfe Echlinokokkusbestandteile 29 Aktinomyceskörner 30 Lungenmykose, Lungensteine 30. Zellige Elemente des Auswurfes 31 Elastische Fasern 32 Kristallinische Gebilde 34 Bakteriologische Untersuchung des Auswurfes 34 Untersuchung im gefärbten Ausstrichpräparat 34 Kulturversuche 36 Tierversuch 36 Untersuchung auf Tuberkelbacillen 36 Sedimentierungsverfahren 39 Züchtung der Tuberkelbacillen 40 Tier	

versuch 41 Differentialdiagnose 41 Pneumokokken 42
Streptokokken 45 Staphylokokken 46. *Micrococcus tetra-*
genus 47 *Micrococcus catarrhalis* 47 Influenzabacillen 49.
Keuchhustenbacillen 50. *Diplobacillus Friedländer* 51
Bacillus pyocyaneus 52. Pestbacillen 52. Streptotricheen
53. Typhusbacillen Milzbrandbacillen 55.

V Die Untersuchung des ausgeheberten Mageninhaltes 55—73

Allgemeine Eigenschaften 56. Die qualitative
chemische Untersuchung 57 Reaktion 57
Freie Salzsäure 59. Milchsäure 59 Flüchtige Fettsäuren 59
Pepsin und Pepsinogen 60 Labferment und Labzymogen
61 Gallenfarbstoff Blut 62. Die quantitative
chemische Untersuchung des Magen-
inhaltes Bestimmung der Gesamtacidität, der freien
Salzsäure 63—65, des Salzsäuredefizits 65 der Milch-
säure 65 Gewinnung von Aciditätskurven 66. Die
mikroskopische Untersuchung des
Mageninhaltes 67 Die Untersuchung des Er-
brochenen 69 Die Untersuchung des Duodenalinhaltes 70.

VI Die Untersuchung der Faeces 73—148

Gewinnung des Untersuchungsmaterials 73. Makro-
skopische Untersuchung 75. Mikroskopische Unter-
suchung 81 Tierische Parasiten 87 Die qualitative
chemische Untersuchung der Faeces
Reaktion 101 Blut 102 Gallenbestandteile 107 Ferment-
nachweis 109. Quantitative chemische Unter-
suchung der Faeces Bestimmung der Trockensubstanz
111 des Gesamtstickstoffs, des Fettgehaltes 111 der Kohle-
hydrate 112. Untersuchung der Gallensteine und Gallen-
konkremente 114 Kotsteine, Darmsteine und Pankreas-
steine 115. Bakteriologische Untersuchung
der Faeces 117 Typhusbacillen 117 Paratyphus-
bacillen und Enteritibacillen 126 Gang der Untersuchung
131 Nahrungsmittelvergiftungen 135. Dysenteriebacillen
137 Choleravibrionen 144 Nachweis der Choleravibrionen
in den Faeces 146 Tuberkelbacillen 147 Staphylokokken
und Streptokokken, Milzbrandbacillen 148 Pestbacillen 148.

VII Die Untersuchung des Harnes 148—270

Die Entnahme des Harnes 148 Die chemische Zu-
sammensetzung des Harnes 149 Die Identifizierung einer
Flüssigkeit als Harn 151 Allgemeine Eigen-
schaften des Harnes Farbe 153. Durchsichtig-
keit 154 Reaktion 155. Die Bestimmung der Wasser-
stoffionenkonzentration 158. Spezifisches Gewicht 161 Ge-
frierpunkt 162. Menge 164 Geruch 165. Die chemische

Untersuchung der pathologischen und abnormen Bestandteile des Harnes Eiweiß 166. Albumosen und Pepton 171. Essigweiß 173. Methoden der Enteiweißung des Harnes 174. Praktischer Gang der qualitativen Untersuchung auf Eiweiß 175. Traubenzucker 176. Milchsucker 183. Fruchtzucker 184. Maltose Inosit Pentosen Glucuronsäure, 184—185. Alkapton 186. Aceton, Acetessigsäure β -Oxybuttersäure 186—189. Leucin und Tyrosin 189. Indican 190. Urobilin 192. Gallenfarbstoff 193. Blutfarbstoff 194. Porphyrin 196. Melanin 197. Die Diazoreaktion 198. Urochromogenreaktion 199. Zufällige Bestandteile des Harnes Blei Quecksilber Arsen usw. 200—207. Die quantitative chemische Untersuchung des Harnes Eiweißbestimmung 207. Zuckerbestimmung 209. Bestimmung des gesamten Stickstoffes 213. Harnstoffbestimmung 215. Harnsäurebestimmung 219. Bestimmung der Chloride 221. der Phosphate 223, der Sulfate 224. des Ammoniak 226. des Acetons der Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure 228. Untersuchung der Harnsteine und Harnkonkremente 231. Mikroskopische Untersuchung des Harnsedimentes 235—260. Bakteriologische Untersuchung des Harnes Gewinnung und Vorbereitung 260. Methoden der Untersuchung 260. *Bacterium coli* 261. *Bacterium lactis aerogenes* 262. Staphylokokken, Streptokokken, Typhusbacillen Gonokokken 263—264. *Micrococcus ureae* Enterokokken 264—266. *Proteus vulgaris* 266. *Bacillus pyocyaneus* Tuberkelbacillen 267.

VIII. Untersuchung der Sekrete der Geschlechtsorgane 271—294

Harnröhrensekret 271. Prostatasekret, Uterussekret 275—276. Spermaflüssigkeit 278. Frauenmilch 280. Zur Methodik der funktionellen Nierendiagnostik 285—291. Schwangerschaftsreaktion nach Zondek Aschheim 291.

IX. Untersuchung des Blutes 295—451

Bestimmung des spezifischen Gewichtes 295. der Gerinnungsfähigkeit 295. der Blutkörperchenresistenz 298. Die Gerinnungspunktbestimmung des Blutes 299. Bestimmung der Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen 299. der Blutungszeit 302. Retraktion des Blutkuchens 302. der Viskosität 303. Refraktometrische Eiweißbestimmung und Bestimmung der Albumin und Globulinwerte im Serum 305. Bestimmung des Hämoglobingehaltes 307. Zählung der Blutkörperchen 309. Bestimmung des Färbe-

Index 313 Die mikroskopische Untersuchung des frischen Präparates 314 des gefärbten Präparates 315. Kurze Morphologie der Blutzellen 319—327 Bestimmung des Prozentverhältnisses der einzelnen Leukocytenarten 327 Die wichtigsten Veränderungen des Blutbildes bei verschiedenen Krankheiten 330—341 Die chemische Untersuchung des Blutes 341—375 Bestimmung des Reststickstoffes 341 des Gesamtstickstoffes 347 des Harnstoffes 347 der Harnsäure 348 des Zuckers 351 des Indicans 358 des Kochsalzes 359 des Bilirubins 360 des Kaliums 362 des Calciums 363 der Phosphate 364 der Acetonkörper 366 des Cholesterins 368 des Kreatins und Kreatinins 369 Die Mikromethode zur Bestimmung von Äthylalkohol im Blut nach *Widmark* 370 Bestimmung des Koagulationsbandes nach *Weltmann* 374 Bakteriologische Untersuchung des Blutes Untersuchung im gefärbten Ausstrichpräparat Malaria 375. *Recurrentespirillen* 382 *Trypanosomen* 383. Kulturelle Untersuchung 384—393. Untersuchung mit Hilfe des Tierversuches 393 Serumdagnostik 395 Agglutination 395 *Gruber Widalsche Reaktion* 402 *Wells Fellsche Reaktion* bei Fleckfieber 408 *Pfeifferscher Versuch* 409 Hämolytischer Versuch 409 Serodagnostik der Syphilis 410 *Wassermannsche Reaktion* 410—431 Citocholreaktion 431 Reaktion nach *Kahn* 432. *Meincke Klärungsreaktion* 433 Untersuchung der Lumbalpunkate auf Syphilis 437 Komplementbindungsreaktion bei Tuberkulose 438, Gonorrhöe 442 Komplementbindungsreaktion bei Echinokokkuserkrankungen 443 Bestimmung der Blutgruppen 444, der Diastase 449 der Serumlipase 450 Die *Takata-Ara-Reaktion* im Blutserum 453 Bestimmung der Alkalireserve 454 des Grundumsatzes 459—468

X. Untersuchung der Punktionsflüssigkeiten 469—489

Allgemeine Eigenschaften und chemische Untersuchung 469 Mikroskopische Untersuchung 472 Untersuchung des Liquors 475 Goldsolreaktion 478. Mastixreaktion 480 Die *Takata Ara-Reaktion* 483. Bakteriologische Untersuchung Methodik 483. Die wichtigsten Befunde 486 Peritonitische Exsudate pleuritische Exsudate 486 Meningitische Punktionsflüssigkeiten 486

XI. Bakteriologische Untersuchung bei Erkrankungen der Haut 489—509

Hauteriterungen 489 Furunkel Abscessae Phlegmonen Gasbrand Rotz 489—494 Milzbrand 494 Aktinomykose

495 Tetanus 495 Bacillen des Ulcus molle 496 Tuber-
kulöse Affektionen der Haut 497 Durch Hyphomyceten
hervorgerufene Krankheiten (Dermatomykosen) 498
Favus 500. Mikrosporie 502 Trichophytie 504 Epidermo-
phythien 507 Pityriasis versicolor 507 Erythrasma
Sporotrychose 508 Blastomykose 509 Spirochaeta pallida
510—516

XII Die gebräuchlichsten bakteriologischen Untersuchungsmethoden, Farbrezepte Nährböden 516—558

Untersuchung im hängenden Tropfen
516. Untersuchung im gefärbten Aus-
strichpräparat Herstellung der Präparate 518
Färbemethoden und Farblösungen 519 Färbung nach
Gram 519 Färbung der Tuberkelbacillen und der anderen
säurefesten Bakterien 520 Mucische Färbung 521
Doppelfärbung nach Weigert 522. Färbung der Keuchhusten-
bacillen 522, der Diphtheriebacillen 522, der Gonokokken
524 Sporenfärbung 524 Kapselfärbung 525 Geißel-
färbung 525 Färbung der Padenpilze 527 von Blut-
präparaten 528. Untersuchung von Schnitt-
präparaten 528—533. Einbetten in Paraffin 529
in Celloidin 530. Universelle Färbemethoden zur Dar-
stellung der Bakterien in Schnitten 530. Spezielle Färb-
methoden 531—533 Kulturverfahren 533—555
Bereitung der Nährböden 533—549 Die gebräuchlichsten
Kulturmethoden 549—555 Anlegen aerober Kulturen 549
anaerober Kulturen 552 Prüfung der biologischen
Eigenschaften der Bakterien 555
Methoden des Tierversuchs 557

I Kapitel

Bakteriologische Untersuchung der Sekrete und Beläge des Mundes und Rachens

Bei der bakteriologischen Untersuchung pathologischer Produkte des Mundes und Rachens handelt es sich am häufigsten um den Nachweis von Diphtheriebacillen. Ferner kommen in Betracht Strepto- Staphylo- Pneumo- und Meningokokken, Influenzabacillen, Diplobacillus Friedländer, der Soorpilz und als Erreger der Angina Vincenti und Stomatitis funiforme Stäbchen und Spirillen. Diese Bakterien können sowohl als selbständige Entzündungserreger bei Angina als auch als mischinfizierende Bakterien bei Diphtherie auftreten. Weiterhin kommt auch der Nachweis von Tuberkelbacillen in Frage.

Gewinnung des Untersuchungsmaterials. Zur Entnahme von Belägen und Sekreten des Mundes und Rachens bedient man sich am besten kleiner Apparate, die in einem Reagenaglas einen an einem Draht befestigten Wattetupfer enthalten, wie sie von den Untersuchungsämtern den Ärzten zur Verfügung gestellt werden.

Man führt mit dem Wattebausch kräftig über den verdächtigen Belag fort und bringt dann die Tupfersonde sofort in das Reagenaglas zurück. Ein Antisepticum (Gurgelung oder Pinselung) darf kurz vor der Entnahme des Untersuchungsmaterials nicht angewandt werden, da die Diphtheriebacillen schon durch schwachwirkende Desinfizientien in ihrer Entwicklung auf künstlichen Nährböden gehemmt werden.

Morphologische und färbereelle Eigenschaften der Diphtheriebacillen. Die Diphtheriebacillen sind unbewegliche Stäbchen, die in ihrem morphologischen Verhalten Differenzen aufweisen, die vor allem von der Art des Nährboden

dem Alter der Kultur und der Temperatur bei der sie gezüchtet sind abhängen. Sie variieren nicht unerheblich in ihrer Länge. Man kann kurze, mittlere und lange Formen unterscheiden. Nach sechs- bis zehnstündigem Wachstum auf erstarrtem reinem Serum oder *Löfflerschem* Blutserum finden sich vorwiegend lange, meist leicht gebogene, keulenförmige oder an beiden Enden zugespitzte Bacillen. In älteren Kulturen sieht man spindel-, hantel-, lanzettförmige Stäbchen auftreten. Die langen Formen lassen bei Untersuchung im hängenden Tropfen in ihrem Protoplasma kleine, stark lichtbrechende Punkte erkennen. Den Formenreichtum der Diphtheriebacillen zeigt sehr schön das Tuschepräparat nach *Burri*. Charakteristisch ist die Gruppierung der Diphtheriebacillen in den Kolonien zu größeren und kleineren, losen Haufen, in denen die einzelnen Individuen vielfach gekreuzt übereinander liegen. Besonders in Klatschpräparaten von jungen Serumkulturen und mitunter in Membranen bieten sie ein Bild dar, das man sich etwa vergegenwärtigen kann, wenn man die gespreizten Finger der einen Hand in verschiedenen Kombinationen über oder neben die der anderen legt.

Die Diphtheriebacillen bilden weder Sporen noch Kapseln. Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen. Besonders geeignet sind verdünnte *Ziehlische* Lösung (1:10) (vgl. Tafel I Fig. 1) und *Löfflers* alkalisches Methylenblau. Mit ersterem färbt man eine Minute, mit letzterem zwei Minuten, ohne das Präparat zu erwärmen. Nach der Gramschen Methode verhalten sich die Diphtheriebacillen positiv. Die aus jungen Kulturen stammenden Stäbchen färben sich gleichmäßig in Präparaten aus 18- bis 20stündigen Kulturen zeigen sie besonders nach Färbung mit *Löfflers* Methylenblau häufig eine oder mehrere ungefärbte Lücken und lassen in der Regel an einem oder beiden Enden gelegene, intensiver als der übrige Teil des Protoplasma gefärbte ovale Körner erkennen. Diese Polkörner (*Babes-Erastsche* Körnchen) treten besonders deutlich bei Anwendung der *Neisserschen* Färbung

hervor. Die Neissersche Methode ist eine Doppelfärbung (vgl. Farbrezepte) (Tafel I Fig 2) durch die die Bacillen braun die ovalen Polkerner dunkelblau gefärbt werden. In der Regel zeigt jedes Stäbchen zwei Körner an jedem Ende eines einzelnen besitzen nur an einem Ende ein Körnchen nicht selten kommt aber auch noch ein drittes in der Mitte liegendes vor. Die Neisserfärbung gelingt nur mit Sicherheit in gleichmäßig dünn ausgestrichenen Präparaten die Serumkulturen entstammen die mindestens neu Stunden alt nicht älter als 20 bis 24 Stunden und bei einer Temperatur zwischen 34 und 37° gewachsen sind. Es ist notwendig jedesmal nach Herstellung frischer Neisserfarben die Zeitdauer der Färbung festzustellen da sie innerhalb geringer Grenzen schwankt. Mitunter fällt bei frischgezüchteten Diphtheriebacillen die Neissersche Färbung negativ aus und gelingt erst nach Umzüchtung.

Kulturelle Eigenschaften. Die Diphtheriebacillen sind fakultative Anaerobier. Sie gedeihen am besten bei Körpertemperatur auf allen gebräuchlichen Nährböden wenn sie schwache aber deutlich alkalische Reaktion zeigen. Für diagnostische Zwecke sind in Gebrauch Bouillon Glycerinagar (5 bis 7%) und vor allem Löfflers Blutserum und der Tellurnährboden von *Clauber*.

Bouillon wird nach ein bis zweitägigem Wachstum entweder gleichmäßig flockig getrübt oder es entwickelt sich ein feinkörniger Niederschlag der an den Wänden und am Boden des Glases haftet. Nicht selten kommt es an der Oberfläche der Bouillon zur Bildung eines dünnen körnigen leicht zerstörbaren Häutchens.

Auf Agar findet nur kümmerliches Wachstum statt besser ist die Entwicklung auf Glycerinagar. Die oberflächlichen Kolonien erscheinen durchsichtig grauweiß bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung zeigen sie eine eigentümlich gekörnte Oberfläche und einen unregelmäßigen zarten Rand. Daneben sieht man mitunter auch einzelne Kolonien die groß mattweiß feucht und voluminös sind.

In Milch wachsen die Diphtheriebacillen üppig ohne sie zur Gerinnung zu bringen

Zur kulturellen Untersuchung diphtherieverdächtigen Materials sind *Löfflers* Blutserum und die Tellurplatte besonders geeignet weil auf ihnen die Begleitbakterien in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Die Tellurplatte hat außerdem den Vorteil daß die Diphtheriebacillen auf ihr sehr charakteristische makroskopisch diagnostizierbare Kolonien bilden.

Auf *Löfflers*serum haben sich die Diphtheriebacillen oft schon nach sechs Stunden zu sehr kleinen durchsichtigen Kolonien entwickelt Nach 24stündigem Wachstum sind die festgefügtten schwer abstreichbaren Kolonien etwa stecknadelkopfgroß knopfförmig prominierend von gelblichweißer Farbe. Konfluieren die dicht stehenden Kolonien so entsteht ein gelblichweißer Rasen der noch deutlich körnig aussieht

Auf der Tellurplatte haben nach 16 bis 24stündigem Wachstum die isolierten Diphtheriebacillenzolonien einen Größendurchmesser von 0.75 bis 1 mm erreicht Sie sind rund flach glattrandig bei auffallendem Licht trocken opak hellgraugelblich gefärbt Bei Betrachtung im durchfallenden Licht bzw mit der Handlupe zeigen sie eine dunkelgraue (nicht schwarze!) Verfärbung die höchstens ein Drittel des Gesamtdurchmessers ausmacht und sich peripherwärts allmählich verliert Der Nährboden in der Umgebung der Kolonie bleibt unverändert Bei längerer Bebrütung greift die dunkle Farbe des Zentrums auf die ganze Kolonie über Sie erscheint graurot und kann einen Durchmesser von 7 mm erreichen Bei dichtem Wachstum erscheint der Bakterienrasen graurot matt und trocken Bei mikroskopischer Untersuchung der Diphtheriekolonien sieht man eine graue pointilliert erscheinende Fläche von unscharfem Rand Im Zentrum findet sich ein kleiner ganz scharf abgesetzter dunkler Punkt

Zur Prüfung des anaeroben Wachstums dient die Stichkultur in alkalischen 15%igen Traubenzucker Agar

Von *Andersen* und seinen Mitarbeitern sind drei Typen von Diphtherie-Bazillen beschrieben worden: Typus *gravis*, *mitis* und *intermedius*. Wie die Namen zeigen ist dabei ein Zusammenhang der Bazillenart mit der klinischen Krankheitsform angenommen worden. Die Nachprüfungen haben jedoch diesen Zusammenhang nicht immer feststellen können, so daß die Bestimmung der Typen für die klinische Praxis nicht in Frage kommt. Ob für eine epidemiologische Bedeutung zukommt wird noch diskutiert. Die Typenbestimmung wird vorgenommen, nachdem durch Beimpfung auf *Löffler*-Serum oder die Tellurplatte Diphtheriebazillen festgestellt sind. Es folgt eine Aussaat auf spezielle Nährboden, und zwar sind dazu am besten die Cystin-Serum-Agarplatte nach *Clauser* oder der Nährboden von *Gundel* *Tietz* geeignet. Die Typen unterscheiden sich durch Größe, Form und Aussehen ihrer Kolonien, so daß die Diagnose ohne Schwierigkeiten makroskopisch gestellt werden kann (Abbildungen der Kolonien bei *Gundel* und *Tietz*, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd 116, S. 431).

Die Diphtheriebazillen erzeugen Toxin, das sich in mehrtägigen Bouillonkulturen nach Abtötung der Bazillen durch Tierversuch nachweisen läßt. Das Gift ist ein Sekretionsprodukt der Bazillen. Die von Bazillen freie Toxinbouillon tötet Meerschweinchen unter gleichen Erscheinungen wie der Diphtheriebazillus.

Nach *Neisser* werden zwei Meerschweinchen von 250 bis 300 g Gewicht subcutan geimpft. Tier 1 (Versuchstier) erhält eine Öse einer 24stündigen *Löffler* Serumkultur in 4 cm³ Bouillon aufgeschwemmt. Tier 2 (Kontrolltier) erhält die gleiche Bakterienaufschwemmung, der drei Tropfen eines 350fachen antitoxischen Serums zugesetzt sind. Der Versuch ist beweisend, wenn Tier 1 innerhalb fünf Tagen eingeht, während Tier 2 am Leben bleibt. Bei der Sektion findet sich ein hämorrhagisches Ödem an der Injektionsstelle. In der Bauchhöhle, im Perikard und in den Pleurahöhlen sind seröse, häufig hämorrhagische Exsudate nachweisbar. Die Nebennieren sind vergrößert, hyperämisch, ihr Gewebe ist von kleinen punktförmigen Blutungen durchsetzt. Meist findet sich eine starke Enteritis, nicht selten ein Ulcus ventriculi oder eine Hämorrhagie in der Magenwand. Die Diphtheriebazillen lassen sich nur in dem Ödem der Impfstelle nachweisen. Der Tod der Tiere erfolgt durch das von den Bazillen gebildete Toxin. Waren die Bazillen weniger virulent, so tritt der Tod des Versuchstieres erst später ein und der Sektions-

befund ist dann nicht so typisch. Bei weiterer Vermehrung der Virulenz entsteht nur an der Injektionsstelle eine lokale Entzündung, die zur Hautnekrose führt und zur Heilung kommt.

Eine Ersparnis an Tiermaterial bedeutet die von *Ahnert* eingeführte intracutane Impfung. Vier Stellen der Bauchhaut werden mit Calciumhydrogensulfat epiliert, drei davon zur quantitativen Virulenzprüfung eine zur Antitoxinkontrolle. Von einer 24stündigen *Löffler*-Serumschlagkultur wird je eine Öse in 10, 100 und 1000 cm³ physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von diesen Verdünnungen werden 0·1 cm³ rein intracutan eingespritzt. Die vierte Stelle erhält 0·05 cm³ der stärksten Konzentration + $\frac{1}{2}$ I. E., ebenfalls in 0·05 cm³ enthalten. Prüft man nur qualitativ, so wird nur 0·1 cm³ der 0·1-Öseverdünnung verwendet. Mit der Antitoxingabe muß man vorsichtig sein, um nicht Allgemeinimmunsierung hervorzurufen. Virulente Stämme erzeugen nach 24 Stunden Rötung und oedematöse Schwellung an der Impfstelle; in den nächsten Tagen erfolgen Haarausfall und mehr oder weniger ausgedehnte Nekrose der Haut.

Differentialdiagnose. Differentialdiagnostisch kommen die Pseudodiphtheriebacillen (*Hoffmannsche* Bacillen) und Xerosebacillen in Betracht. Die ersteren gehören zu den normalen Bewohnern des Rachens, die letzteren kommen auf der Conjunctiva und in der Nase vor. Die morphologischen Unterschiede zwischen Pseudo- und echten Diphtheriebacillen treten am deutlichsten in Klatschpräparaten von jungen sechs- bis zehnstündigen Blutserumkulturen hervor. Hier zeigen sich die Pseudodiphtheriebacillen meist als kurze plumpe, oft keilförmig gestaltete Stäbchen; es fehlen die charakteristischen langen Formen, die gleichalterige Diphtheriebacillenkulturen stets aufweisen. Auch die typische Gruppierung der Diphtheriebacillen wird vermißt; die Pseudodiphtheriebacillen liegen meist mit den Längsseiten parallel nebeneinander palisadenartig angeordnet. In Ausstrichpräparaten aus älteren Kulturen treten die morphologischen Unterschiede nicht mehr so scharf hervor.

Tinktoriell unterscheiden sich die Pseudodiphtheriebacillen von den echten Diphtheriebacillen durch den negativen Ausfall der *Neisserschen* Färbung. Zwar lassen auch Pseudodiphtheriebacillen zuweilen Polkörner erkennen, jedoch finden sie sich immer nur vereinzelt, nie

so regelmäßig wie bei Diphtheriebacillen. Zur differential diagnostischen Färbung werden am besten 12- bis 24stündige Kulturen verwandt, da das Fehlen der Polkörner bei sechs- bis zehnstündigen Kulturen ebenso wenig beweisend ist wie ihr Auftreten bei älteren Kulturen. Mit *Löfflers* alkalischen Methylenblau färben sich die Pseudodiphtheriebacillen gleichmäßig, während die Diphtheriebacillen granuliert erscheinen. Nach *Langer* und *Kruger* zeigen die Diphtheriebacillen geringere Gramfestigkeit als die Pseudodiphtheriebacillen. Sie geben eine verlängerte Gramfärbung an, bei der die ersteren entfärbt werden, während die letzteren gefärbt bleiben (vgl. Farbrezepte).

Kulturell sind die Pseudodiphtheriebacillen charakterisiert durch ihr üppigeres Wachstum auf Agar und die anfangs langsamere Entwicklung auf Serum. Ihre Kolonien sind von grauweißer Farbe, feuchtglänzend, von weicher zerfließlicher Konsistenz im Gegensatz zu den festgefügtten Diphtheriebacillenkolonien. Die Pseudodiphtheriebacillen wachsen nur aerob, die Diphtheriebacillen sind fakultativ anaerob.

Diphtheriebacillen bilden auf Nährböden die Traubenzucker oder Lävulose enthalten. Säuere Pseudodiphtheriebacillen nicht.

Zur Feststellung der Säurebildung dient der *Thiellsche* Nährboden (vgl. Kapitel VII) in dem Diphtheriebacillen nach 24stündiger Bebrütung bei 37° starke Rötung und Trübung hervorrufen, während Pseudodiphtheriebacillen ihn klar lassen und seine Farbe nicht verändern. Eine bedeutende Vereinfachung der Differentialdiagnose zwischen echten Diphtheriebazillen und Pseudodiphtheriebazillen wird durch die Anwendung des von *Claiberg* angegebenen Indicator Tellur Nährboden (vgl. Kapitel VII) erzielt. Nach zwölfstündiger Bebrütung zeigen die Kolonien der echten Diphtheriebacillen einen intensiv blauen Hof, der bei Durchsicht gegen Licht in satter Farbe erkennbar ist. Die Pseudodiphtheriebacillen lassen den Nährboden unverändert oder bekommen infolge Alkalibildung einen gelblich-orange-

farbenen Hof. Diese Methode ist besonders geeignet für Untersuchungsstationen in denen Massenuntersuchungen vorgenommen werden da sie eine schnelle makroskopische Diagnose ermöglicht.

Die *Xerosebacillen* gleichen in ihrem Aussehen den langen Wachstumsformen der Diphtheriebacillen zeigen aber auf Serum ein viel langsames Wachstum als diese. Nach sechs Stunden sind sie auf Blutserum so wenig entwickelt und haften so fest am Nährboden daß im Klatzchpräparat keine typischen Haufen erscheinen. Auch nach 20 Stunden ist die Entwicklung der Kolonien noch nicht sehr bedeutend und gestattet noch die Herstellung des Klatzchpräparates was bei echten Diphtheriebacillen in Folge ihres üppigeren Wachstums zu dieser Zeit nicht mehr möglich ist.

Durch die *Neissersche* Methode lassen sich die *Xerosebacillen* von den Diphtheriebacillen nicht immer trennen da auch *Xerosebacillen* häufig die Polfarbung annehmen. Bezüglich der Säurebildung auf Dextrose und Lävulose enthaltenden Nährböden verhalten sie sich wie Pseudodiphtheriebacillen und wachsen auch wie diese nur aerob.

Ein weiteres Differenzierungsmittel zwischen Diphtheriebacillen und diphtherieähnlichen Stäbchen stellt der Tierversuch dar der in der beschriebenen Weise angestellt mit den diphtherieähnlichen Bakterien negativ ausfällt. Doch versagt er mitunter da auch typische Diphtheriebacillen für Meerschweinchen avirulent sein können so daß nur der positive Ausfall der Versuche beweisend ist.

Gang der Untersuchung. Mit dem eingesandten Material wird zunächst ein sterilisiertes Deckgläschen oder ein Objektträger bestrichen dann werden Kulturen auf Löfflers Blutserum oder Tellurnährboden und bei Verdacht auf Mischinfektion auf einer Blutagarplatte (s. Kap. XII) angelegt indem das Untersuchungsmaterial direkt mit dem Tupfer auf dem Nährboden ausgestrichen wird (Schmierplatte).

Untersuchung der Ausstrichpräparate
Färbung mit zehnfach verdünnter *Ziehl'scher* Lösung oder
mit *Löffler'schem* Methylenblau und nach *Gram* Finden
sich verdächtige Stäbchen so färbt man auch nach *Neisser*
in der *Gram'schen* Modifikation (vgl. Kap. XII)

Im Ausstrichpräparat gelingt der Nachweis der Diphtheriebacillen nur selten. Es finden sich meist Kokken und Stäbchen verschiedener Art. Nur in einzelnen Fällen sieht man schon in den Ausstrichpräparaten in typischen Haufen gelagerte und nach *Neisser* färbbar. Bacillen. Stammt das Untersuchungsmaterial aus dem Rachen eines Erkrankten so kann man schon aus diesem Befunde die Wahrscheinlichkeitsdiagnose auf Diphtherie stellen. Bei Untersuchung von Rekonvaleszenten oder Bacillenträgern ist in jedem Falle zur Abgabe des definitiven (entscheidenden) das Ergebnis der Kultur abzuwarten.

Untersuchung der Kulturen Von dem *Löffler Serum* werden nach sechsstündigem Verweilen im Brutschrank Klatsch- oder Abstrichpräparate gemacht und mit verdünntem Fuchsin oder *Löffler'schem* Methylenblau gefärbt. Sind die oben beschriebenen Stäbchen nahezu in Reinkultur in typischen Haufen angeordnet nachweisbar so ist die Diagnose Diphtherie sehr wahrscheinlich auch wenn die *Neisser* Färbung noch nicht positiv ist. Nach 10- bis 18-stündigem Wachstum werden die Kulturen wiederum geprüft. Enthält das Untersuchungsmaterial entwicklungs-fähige Diphtheriebacillen so haben sie sich jetzt zu charakteristischen Kolonien entwickelt. Es werden nun Abstrichpräparate von der Kultur hergestellt und mit *Löffler'schem* Methylenblau nach *Gram* und *Neisser* gefärbt. Finden sich grampositive typisch gelagerte Stäbchen welche die charakteristische Pollfärbung und im Methylenblaupräparat das gekornete Aussehen zeigen so kann die Diagnose Diphtherie abgegeben werden wenn das Ausgangsmaterial von einem erkrankten Menschen stammt und aus dem Rachen entnommen ist.

Sind nach 12 bis 24 Stunden ausschließlich Kokken gewachsen so ist es sehr unwahrscheinlich daß Diphtherie vorliegt jedenfalls muß die Kultur am nächsten Tage nochmals untersucht werden da mitunter noch nachträglich Diphtheriebacillen zur Entwicklung kommen namentlich wenn kurz vor der Entnahme des verdächtigen Belages mit einem Desinficiens gegurgelt wurde. Stammt das Material von Rekonvaleszenten oder Bacillenträgern so wird die Kultur in jedem Falle nochmals nach 48stündiger Bebrütung geprüft.

Die Tellurplatten werden nach 15—24stündiger Bebrütung geprüft. Für die Untersuchung kommen nur die Platten in Frage die schon makroskopisch typische Diphtheriekolonien erkennen lassen. Alle anderen Platten können als negativ ausgeschlossen werden. Die verdächtigen Kolonien werden in der geschilderten Weise mikroskopisch untersucht. Die Ausbeute an positiven Fällen soll auf der Tellurplatte größer als auf *Löffler* Serum sein. Ein Nachteil dieses Nährbodens ist seine geringe Haltbarkeit (nur bis zu 5 Tagen). Seine Verwendung kommt daher nur für größere Untersuchungsämter in Betracht.

In seltenen Fällen ist bei positivem Befund im Ausstrichpräparat das Kulturergebnis negativ. Dieses Resultat kann durch Anwendung eines Desinficiens vor der Materialentnahme veranlaßt sein. Alsdann ist die Bakterienentwicklung auf der Platte überhaupt sehr gering. Mitunter kommen aber auch gerade nach Verarbeitung dicker Membranen bei reichlichem Wachstum anderer Bakterien Diphtheriebacillen trotz positiven Originalpräparates nicht zur Entwicklung.

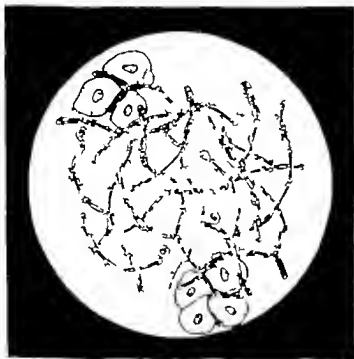
Die Identifizierung der anderen auf der Platte zur Entwicklung gekommenen Bakterien geschieht nach den bei der Sputumuntersuchung geschilderten Methoden.

Eine besondere Erwähnung erfordern die hämolytischen Streptokokken deren wichtige Rolle bei der Pathogenese des Scharlachs allgemein anerkannt ist.

Ein Teil der Autoren hält ihre ätiologische Bedeutung für erwiesen andere sind der Ansicht daß neben den Streptokokken noch andere Erreger bei der Entstehung des Scharlachs in Betracht kommen.

Die Untersuchung des Halsabstriches auf hämolytische Streptokokken wird bei Verdacht auf

Fig 1



Soorpilze (Aus Kewarski, Klinische Mikroskopie.)

Scharlach und bei Rekonvaleszenten zur Feststellung ihrer Infektionsfähigkeit vorgenommen Als Nährboden dient die 5%ige Blutagar Platte. Am geeignetsten ist Pferdeblut Der Tupfer wird direkt auf dem Nährboden ausgestrichen. Nach 12 bis 18stündiger Bebrütung bei 37° sind im positiven Falle zahlreiche von einem hellen Hof umgebene zarte Kolonien gewachsen.

vorkommt muß das Untersuchungsmaterial stets auch kulturell untersucht werden.

Die Präparate werden mit verdünnter Ziehlischer Lösung nach *Giemsa* oder nach *Pappenheim* gefärbt. Auch Tuschepräparate nach *Burri* geben gute Bilder (cf Kapitel VII)

Es finden sich in den Präparaten zahlreiche fusiforme Stäbchen und Spirochäten verschiedener Art. Bei der diphtherioiden oder pseudomembranösen Form der Angina Vincenti finden sich in der Regel nur die fusiformen Bacillen, bei der ulcerösen Form außerdem zahlreiche Spirochäten. In frischen Fällen sind die Bac. fusiformes oder Bac. fusiformes und Spirochäten fast in Reinkultur nachweisbar, daneben zeigen sich meist nur wenige gewöhnliche Mundbakterien. Erst beim Abklingen des Krankheitsprozesses treten die Begleitbakterien mehr in den Vordergrund.

Die Bac. fusiformes sind meist lange, schlanke, an den Enden zugespitzte, gramnegative Stäbchen, die in der Mitte eine leichte Anschwellung zeigen und daher spindelförmig erscheinen. Sie sind geradlinig oder leicht gekrümmt (kommaförmig). Im gefärbten Präparat ist in der Mitte ihres Körpers häufig eine ovale, ungefärbte Vakuole wahrnehmbar. In den Giemsa-Präparaten zeigen die Bac. fusiformes im blauen Protoplasma ein oder mehrere Chromatinkörner. Neben diesen typischen schlanken Formen finden sich auch kürzere Stäbchen und zarte, lange, an den Enden zugespitzte, oft S-förmig gebogene Fäden. Im Ausstrichpräparat liegen die Bac. fusiformes meist einzeln über das ganze Gesichtsfeld verstreut, oft zu zweien, mehr oder weniger stumpfe Winkel bildend, seltener in Haufen, in denen dann ihre Lagerung der typischen Anordnung der Diphtheriebacillen gleicht.

Die Züchtung der Bac. fusiformes gelingt nur anaerob auf Serum oder Aschewagar. Entwickeln sich nach 24 bis 48stündigem Wachstum feine gelblichweiße Kolonien mit etwas dunklerem Zentrum, von dem nach allen Seiten hin helle strahlige Ausläufer ausgehen. In Serumbouillon bildet sich ein flockiger Niederschlag.

Die Spirochäten, die in der Mehrzahl der Fälle die Bac. fusiformes begleiten, entsprechen in ihrem Aussehen den auch normalerweise in der Mundhöhle, besonders im Zahnbelag vorkommenden Spirochäten (nach *Miklows* Spirochaeta buccalis und mittlere Form der Mundspirochäten). Sie stellen korkzieherartig gewundene, lebhaft bewegliche Gebilde dar, die in Form und Größe Differenzen untereinander aufweisen. Es finden sich nebeneinander zartere und dickere Spirochäten, Exemplare von drei bis fünf Windungen und längere, die zehn und mehr Windungen aufweisen. Die meisten haben flache und unregelmäßige Windungen, die nur bei Bewegungen steiler werden, andere zeigen in der Art ihrer Windungen eine gewisse Ähnlichkeit mit der Spirochaete pallida (Unterwiesing, 1905). In frischen Untersuchungsmaterialien nach Verreibung mit einem Tropfen Kochsalzlösung im Dunkelfeld. Die Spirochäten färben sich schwächer als die Bac. fusiformes; nach der Gramschen Methode verhalten sie sich ebenfalls negativ. Man findet sie im Ausstrichpräparat einzeln liegend oder in mehr oder weniger lockeren Häufchen oder in dichten, miteinander verflochtenen

Stomatitis ulcerosa. Die Präparate die aus den Belägen der (eschwure gefärbt werden bieten das gleiche Bild dar das sich bei Angina Vincenti findet

Noma In den Präparaten aus dem brandigen Gewebe sind ebenfalls fusiforme Stäbchen und Spirillen in großer Menge nachweisbar. An der Grenze zwischen brandigem und gesundem Gewebe finden sich zahlreiche kladothrixartige zu langen Fäden ausgewachsene Bacillen

Angina leptothrix. Der Erreger dieser selteneren Erkrankung ist *Leptothrix buccalis*, der auch normalerweise häufig in der Mundhöhle vorkommt. Leptothrixen sind lange, unbewegliche Fäden ohne Verzweigungen, die sich mit verdünnten Anilinfarbstoffen leicht färben und in der Regel grampositiv sind. Doch findet man nicht selten neben grampositiven auch gramnegative Fäden. Bei der Behandlung mit *Lapalcher* Lösung färben sie sich gelb oder bläulich. Auf Agar entwickeln sie sich nur langsam zu kleinen tropfenartigen Kolonien, in Traubenzucker bouillon bilden sie einen körnigen Bodensatz und lassen den Nährboden klar. Zur Untersuchung entnimmt man die weißen Plaques, Körner oder Belege, die sich an der Pharynxwand, auf den Tonsillen, am weichen Gaumen und auf dem Zungenrund entwickeln und untersucht sie im gefärbten Präparat. Man findet, daß sie hauptsächlich aus dichten Geflechten von Leptothrixfäden bestehen.

Meningokokken. Die Meningokokken sind im Schleim des Nasenrachenraumes von Patienten nachweisbar, die an epidemischer Genickstarre leiden, besonders im Beginn der Erkrankung, sowie bei Menschen, die mit derartigen Kranken in Berührung gekommen sind (Kokkenträger).

Das Untersuchungsmaterial wird mittels rechtwinklig aufwärts gebogener Tupfersonde, die vom Munde aus hinter dem weichen Gaumen in die Höhe geführt wird, aus dem oberen Teile des Nasenrachenraumes von der Gegend der Rachentonsille entnommen und möglichst unmittelbar nach der Entnahme auf den Nährboden übertragen.

Morphologische und färberelevante Eigenschaften. Die Meningokokken sind Diplokokken, die in Form und Anordnung den Gonokokken gleichen. Charakteristisch ist in Präparaten von Kulturen das häufige Vorkommen von Trifaden und Tetraden. Die einzelnen Kokken weisen oft erhebliche Größenunterschiede auf, es finden sich neben normalen sehr große tiefgefärbte Exemplare und oft um das Dreifache kleinere schlecht gefärbte. Diese Größenunterschiede geben dem Präparate ein charakteristisches Aussehen. Im Sekret liegen die Meningokokken oft zu Häufchen gruppiert innerhalb der Eiterzellen.

Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und sind wie die Gonokokken und der *Micrococcus catarrhalis* gramnegativ.

Kulturelles Verhalten. Die Meningokokken wachsen unter aeroben und halbaeroben Bedingungen; sie gedeihen am besten bei einer Temperatur von 37° auf schwach alkalischen Nährböden (pH Konzentration 7.2 bis 7.4), die menschliches oder tierisches Eiweiß in nicht geronnenem Zustand und Traubenzucker enthalten.

(1 Teil Ascitesflüssigkeit + 3 bis 4 Teile 8%iger Traubenzuckeragar)
 Auf gewöhnlichem Agar gedeihen sie in der ersten Generation nicht oder nur sehr spärlich, in späteren Generationen lassen sie sich besonders bei reichlicher Überimpfung an diesen Nährboden gewöhnen. Gute Wachstumsbedingungen bieten ihnen auch *Löfflers* Blutserum sowie bluthaltige Nährböden, wie *Levinthal*agar und *Schottmüllers* Blutagar. Sie bilden auf Ascitesagar nach blutähnlichem Wachstum 2 bis 4 mm große, runde, glasig durchscheinende bei durchfallendem Licht grünlich schimmernde bei auffallendem Licht einen leichten Perlmutterschimmer aufweisende Kolonien. Bei der mikroskopischen Betrachtung erscheinen sie schmutziggelb, homogen, glattrandig oder etwas wellig granuliert. Bei älteren Kolonien läßt sich eine leicht erhabene zentrale und flache periphere Zone unterscheiden. Sie lassen sich leicht abheben und leicht in Kochsalzlösung verreiben. Auf schrägem Ascitesagar bildet sich ein homogener graudurchscheinender Rasen. Auf der Oberfläche älterer Kolonien (über drei Tage alt) erscheinen häufig kristallinische Auflagerungen. Ascitesbouillon (1 + 9) wird getrübt, öfters kommt es zur Bildung einer Kahlhaut. Milch wird nicht zur Gerinnung gebracht, das Wachstum ist dann oft gering. Die Meningokokken bilden aus Dextrose und Maltose Saure *Lavulose*, Mannit, Milchrucker Rohrzucker, Dulcitol, Galaktose und Inulin vermögen sie nicht anzugreifen. *Langelsheim* hat zur Feststellung dieses Verhaltens der Meningokokken einen Ascites-lackmuszuckeragar angegeben (vgl. Nährboden). Auch *Levinthal* Agar mit Zusatz von 10% steriler Lackmuslösung und 1% der betreffenden Zuckerart ist hierfür geeignet. Enthalt der Nährboden Maltose oder Dextrose, so wird er durch das Wachstum der Meningokokken rot gefärbt, sind ihm die anderen Zuckerarten zugefügt, (*Lavulose* usw.) so bleibt er blau. Für diagnostische Zwecke genügt die Prüfung gegenüber Maltose, Dextrose und *Lavulose*. Gute Dienste zur Identifizierung der Meningokokken leistet der *Schottmüllersche* Menschenbluttraubenzucker agar (1 Teil Blut + 4 Teile 8%iger Traubenzuckeragar), auf dem die Meningokokken sehr charakteristische Kolonien bilden. Ihre Farbe ist grau-violett, die Oberfläche zeigt einen matten Glanz, der Durchmesser schwankt zwischen 1 mm (nach eintägiger) und 8 mm (nach mehr tägiger Bebrütung). Kleinere Kolonien erheben sich 0.5 mm, größere 1.5 mm über dem Nährboden. Ihre Konsistenz ist schmalzig.

Die Zucht unter halbaneroben Bedingungen eignet sich besonders zur Gewinnung von Primärkulturen. Man verwendet dazu Schalen mit Traubenzucker Ascites-Agar in deren Deckel 3 Scheiben Fließpapier gelegt sind, von denen eine mit 10%iger Pyrogallolösung, die zweite mit 10%iger Natronlauge getränkt ist und die dritte trocken bleibt. Die geschlossene Schale wird mit einem Gewicht beschwert.

Der Tierversuch kommt für diagnostische Zwecke nicht in Betracht.

Agglutinationsprobe. Da es serologisch differente Typen von Meningokokken gibt, empfiehlt es sich, zur Anstellung der Agglutinationsprobe ein polyvalentes Serum zu benutzen. Der Typus der Agglutination ist der körnige mit nachträglicher Zusammenballung der Körner. Man begegnet aber auch schwer agglutinablen Stämmen, bei denen die Agglutinationsprobe als Differenzierungsmittel versagt. Auf Grund eines negativen Agglutinationsversuches läßt sich daher die Meningokokken natur einer sonst typischen Stammes nicht bestreuen. Andererseits kommen

einigen Minuten das Sekret durch die Befeuchtung etwas gelockert hat wird es mit dem Tupfer über die Platte verteilt. Die Verdünnungen werden hergestellt indem mit einem sterilen Glasspatel zuerst über die feuchte Oberfläche der Originalplatte hinweggestrichen wird und dann hintereinander zwei bis drei weitere Ascites-Agarplatten beimpft werden.

Der Tupfer an welchem der Schleim haftet wird ferner direkt hintereinander über drei Ascitesplatten ausgestrichen oder es werden Strichkulturen angelegt und zwar fünf bis sechs parallele Striche in Abständen von 0,5 bis 1 cm. Der Nährboden muß dabei immer mit der gleichen Stelle des Tupfers bestrichen werden. Nach 24stündigem Wachstum bei 37° werden von den verdächtigen Kolonien kleine Proben abgenommen und im Gram-Präparat geprüft. Findet man gramnegative Diplokokken so wird der Rest der Kolonie abgestochen und auf schrägen Ascitesstraubenzuckeragar übertragen. Zur Identifizierung werden die gezüchteten Reinkulturen mikroskopisch geprüft charakteristisch ist die typische Form und Lagerung verschiedene Korngröße, wechselnde Intensität in der Färbbarkeit. Ferner werden Überimpfungen auf den *Lingelsheim*schen Nährboden vorgenommen und schließlich die Agglutinationsprobe an gestellt.

II Kapitel

Bakteriologische Untersuchung des Nasensekretes

Das Nasensekret wird mittels Tupfersonde oder Platinöse unter Zuhilfenahme des Nasenspiegels entnommen.

Das Untersuchungsmaterial wird im gefährzten Ausstrichpräparat kulturell und im Tierversuch geprüft. Es kommen besonders in Betracht Diphtheriebacillen Tuberkel bacillen Leprabacillen Influenzabacillen Pneumokokken Micrococcus catarrhalis und die zur Gruppe des Diplobacillus

Friedländer gehörenden Mikroorganismen die sogenannten Ozaena und Rhinosklerombacillen.

Diphtheriebacillen. Der Nachweis der Diphtheriebacillen geschieht nach derselben Methode wie bei der Untersuchung von Rachenbelägen. Jedoch ist in Fällen in denen die Diphtherie nicht vom Rachen auf die Nasenhöhle übergegangen ist wegen des überaus häufigen Vorkommens diphtherieähnlicher Stäbchen in der Nase zur Verifikation der gezüchteten Bakterien die Prüfung auf Säurebildung Züchtungsversuch unter anaeroben Bedingungen und eventuell der Tierversuch erforderlich.

Leprabacillen Die Leprabacillen gehören wie die Tuberkelbacillen zur Gruppe der säurefesten Stäbchen. Auch in ihrer Form gleichen sie diesen außerordentlich erscheinen nur meist kürzer und gerader. In der Regel liegen sie in dichten Haufen als zigarrenbündelähnliche Pakete innerhalb der Zellen. Trotzdem die Leprabacillen sich etwas leichter als Tuberkelbacillen färben ist der Unterschied doch nicht so ausgesprochen und so konstant daß er zur Unterscheidung der beiden Arten verwertbar wäre. Die Leprabacillen sind grampositiv. Ihre Züchtung ist *Sigma* aus Lepraknoten nach Verreibung in Kochsalzlösung auf Glycenn Kartoffel gelungen. Auf Tiere sind sie nicht übertragbar. Die Verimpfung auf Meerschweinchen kann zur Differentialdiagnose zwischen Lepra und Tuberkelbacillen herangezogen werden. Der negative Ausfall des Tierversuches spricht für Lepra.

Tuberkelbacillen. Der Nachweis geschieht mit Hilfe des gefärbten Ausstrichpräparates. Zur Differentialdiagnose gegenüber Leprabacillen und den normalerweise in der Nase vorkommenden anderen säurefesten Stäbchen muß der Tierversuch herangezogen werden.

Zur Gruppe des *Diplobacillus* Friedländer gehörende Bakterien finden sich sehr häufig im Nasensekret gesunder Menschen. Die bei Ozaena und Rhinosklerom nachgewiesenen Mikroorganismen sind nicht mit Sicherheit vom *Diplobacillus* Friedländer zu trennen. Sie stimmen in ihrem

morphologischen und kulturellen Verhalten sowie im Tierversuch fast völlig mit diesem überein die Abweichungen die sie mitunter aufweisen sind nicht ausgesprochener als die Differenzen die auch verschiedene Stämme des *Diplobacillus Friedländer* selbst untereinander erkennen lassen Auch mit Hilfe des Agglutinationsverfahrens ist es nicht gelungen die drei Bakterienarten voneinander zu differenzieren. Über den Nachweis dieser Bakterien sowie der Pneumokokken der Influenzabacillen und des *Micrococcus catarrhalis* vgl. Sputumuntersuchung

III Kapitel.

Bakteriologische Untersuchung des Conjunctivalsekretes

Das Untersuchungsmaterial kann mittels der für die Entnahme von Halsbelägen angegebenen Tupfer gewonnen werden Ist das Sekret dünnflüssig, so bedient man sich steriler Capillarrohren die nach seiner Aufnahme auf beiden Seiten mit Wachs oder Siegelack geschlossen werden. Wird das Material sofort am Krankenbett verarbeitet so entnimmt man es mit der ausgegluhten Matinose

Für die Untersuchung kommen gewöhnlich das gefärbte Ausstrichpräparat und das Züchtungsverfahren in Betracht nur wenn es sich um Nachweis von Diphtherie- und Tuberkelbacillen handelt kommt der Tierversuch in Frage

Diphtheriebacillen Ihr Nachweis geschieht nach der im Kapitel I geschilderten Methode Differentialdiagnostisch müssen die *Aerosebaccillen* berücksichtigt werden.

Tuberkelbacillen. Bei Tuberkulose der Conjunctiva gelingt der Nachweis der Tuberkelbacillen mitunter schon im Ausstrichpräparat in vielen Fällen ist jedoch der Tierversuch erforderlich Als Impfmateriel kann das Sekret eines Geschwurs oder auch ein Stückchen exzidiierter Conjunctiva verwendet werden

Gonokokken Der Nachweis der Gonokokken geschieht mit Hilfe des mit verdünntem Methylenblau und nach *Gram*

gefärbten Ausstrichpräparates. Zu ihrer Identifizierung ist das Kulturverfahren erforderlich, da ihnen morphologisch und tinktoriell ähnliche Diplokokken vor allem *Micrococcus catarrhalis* und Meningokokken im Conjunctivalsekret nachgewiesen sind (vgl. Untersuchung des Urethralsekretes).

Koch Weeksche Bacillen Sie finden sich als Erreger akuter und chronischer Conjunctivitis im Sekret des Bindehautsackes. In den mit *Löfflers* Methylenblau gefärbten Sekretpräparaten sind besonders während des Anstieges und auf der Höhe der akuten Erkrankung, aber auch bei chronischen Fällen zahlreiche feine schlanke den Influenza bacillen ähnliche Stäbchen von verschiedener Länge nachweisbar. Sie liegen entweder innerhalb der Epithelzellen, die von ihnen vollgepfropft erscheinen, oder auch extracellulär und sind gramnegativ.

Auf gewöhnlichem Agar gelingt die Kultivierung der Bacillen in der Regel nicht. Sie gedeihen gut auf Menschenblut und Levinthalagar (15) und entwickeln sich in 24 bis 48 Stunden zu kleinen feuchten, taupfropfenähnlichen Kolonien.

In Blut bzw. Serumbouillon rufen sie eine zarte diffuse Trübung hervor, die bald zu Boden sinkt.

Diplobacillus Morax Axenfeld Die durch diese Diplobacillen hervorgerufene Conjunctivitis liefert oft nur wenig Sekret. Man benützt zur Herstellung des Ausstrichpräparates den Schleim, welcher gewöhnlich auf der Karunkel in geringer Menge nachweisbar ist. In den mit verdünntem Methylenblau gefärbten Präparaten finden sich die Bacillen, welche in ihrem Aussehen dem *Diplobacillus Friedländer* gleichen, teils frei, teils auf Epithelzellen liegend. Sie sind meist zu zweien angeordnet und präsentieren sich als plumpe Stäbchen mit wenig abgerundeten Enden, einem etwas abgestumpften Rechteck gleichend. Sie entfärben sich nach Gram.

Die Diplobacillen wachsen auf Blutserum oder serumhaltigem Agar. Das Blutserum wird verflüssigt. In Reia

kulturen kommt es schon nach zwei Tagen zur Bildung mannigfacher zum Teil barocker sehr großer Involutionsformen.

Auch Influenzabacillen Pneumo- Strepto- Staphylo- und Meningokokken werden im Conjunctivalsekret als Erreger von Bindehautkatarren gefunden Über den Nachweis dieser Bakterien vgl. Untersuchung des Sputums und der Punktionsflüssigkeiten

IV Kapitel

Untersuchung des Sputums

Gewinnung des Sputums zur Untersuchung

Der Auswurf muß in einem sauberen, am besten sterilisierten GefaÙe aufgefangen und möglichst bald nach dem Anshusten untersucht werden. Ist dies nicht möglich, so fangt man ihn in 0.5%igem Carbolwasser auf. Bei Verwendung starkerer Konzentrationen des Carbolwassers koaguliert das Sputum und laÙt sich schlecht verarbeiten. Mit Carbolwasser versetzter Auswurf ist zu Züchtungsversuchen natürlich nicht brauchbar.

Zur Untersuchung ist nur Sputum zu verwenden, das durch Husten und nicht durch Raussperren entleert ist. Um Verunreinigungen aus der Mundhöhle fernzuhalten laÙt man den Mund vor dem Auswerfen mehrmals mit frisch abgekochtem Wasser spülen. Ist wenig Auswurf vorhanden, so benutzt man am besten das Morgensputum zur Untersuchung oder laÙt, wenn es sich um den Nachweis von Tuberkelbacillen handelt, den Auswurf von einem oder mehreren Tagen in einem gut verschließbaren GefaÙe ohne Wasserzusatz sammeln. Um die Expektoration anzuregen, kann man Jodkali geben. Ferner wird empfohlen, bei Patienten, die kein Sputum produzieren, eine Sputumflocke mittels eines Wattebauschs vom Larynx zu entnehmen. Der Patient muß nüchtern sein und darf keine Mundtoilette gemacht haben. Unter Leitung des Kehlkopfspiegels wird mittels 15 bis 20 cm langen vorn stumpfwinklig abgebogenen Tampontrager ein kleiner Wattebausch zwischen die Stimmbänder eingeführt. Meist wird dann durch einen HustenstoÙ Sputum gegen den Wattebausch geschleudert. Bleibt der Hustenreiz aus, drückt man bei geschlossenem Munde nach Entfernung des Spiegels leicht massierend von auÙen den Kehlkopf, wodurch in der Regel ein HustenstoÙ ausgelöst wird.

Allgemeine Eigenschaften.

Über die allgemeinen Eigenschaften des Auswurfes gibt die makroskopische Betrachtung, welche der mikroskopischen Untersuchung stets vorausgehen soll, AufschluÙ. Zu diesem Zwecke wird das Sputum in eine Doppelschale gegossen und auf dunklem Untergrund betrachtet. Es ist zu

achten auf: Menge, Geruch, Durchsichtigkeit, Schichtung, Farbe. Zusammensetzung des Auswurfes und besonders hervortretende Bestandteile

Menge des Auswurfes. Sie ist bei den meisten Erkrankungen der Respirationsorgane eine überaus wechselnde, nur für einzelne ist gerade die Massenhaftigkeit des produzierten Sputums charakteristisch, so beim durchgebrochenem Empyem, bei Bronchiektase, Lungengangran und Abscess.

Geruch. Frisch entleertes Sputum hat meist keinen charakteristischen Geruch. Es ist übelriechend, sobald es sich infolge längeren Stehens zersetzt. Einen widerlichen, oft aashaft fauligen Geruch besitzt der Auswurf bereits beim Anhusten bei Erkrankungen, bei denen seine Zersetzung schon innerhalb des Körpers vor sich gegangen ist (Lungengangran, putrida Bronchitis, Bronchiektase usw.)

Schichtung. Bei Bronchiektase, putrider Bronchitis und Lungenbrand sondert sich der Auswurf bald nach der Entleerung in drei Schichten, eine obere schaumige von grüngelblicher Farbe, eine mittlere durchscheinend seröse und eine untere undurchsichtige von eitrigen Charakter. Eine Zwischenschichtung läßt das Sputum gewöhnlich nach längerem Stehen beim Lungenabscess erkennen. Es bildet sich eine obere seröse, dem Eiter serum entsprechende Schicht, und eine untere gelbe, undurchsichtige, welche die zelligen Elemente enthält.

Farbe und Durchsichtigkeit hängen im allgemeinen vom Reichtum des Auswurfes an zelligen Elementen ab. Das zellarme Sputum ist hell, glänzend, das zellreiche undurchsichtig und gelb. Am auffälligsten ist seine Färbung durch Beimengung von Blut. Hellrot schaumig erscheint es bei Blutungen aus erodierten Gefäßen, pathognomonisch ist sein rostfarbenes Aussehen bei Pneumonie, dunkel schwärzlich ist seine Farbe beim hämorrhagischen Infarkt und beim Ablauf phthisischer Blutungen. Der dünnflüssige Auswurf beim Lungenödem ist je nach dem Blutgehalt gelblich, rosafarben oder dunkelrot, er ist pflaumenbrüheartig beim eitrigen Lungenödem im Anschluß an kruppöse Pneumonie. Ein himbeergelceartiges Aussehen kann der Auswurf haben bei Hamoptoe infolge von Neoplasmen. Ist bluthaltiger Auswurf zersetzt, wie bei Lungengangran, so zeigt er eine braune oder auch schmutzigrüne Farbe.

Eine grüne Verfärbung kann das Sputum infolge von Pigmentbildung durch Bakterien (*B. pyocyaneus*, *B. fluorescentes*, *Sarcina*-arten usw.) zeigen.

Zusammensetzung des Auswurfes. Man unterscheidet schleimigen, schleimig-eitrigen, rein-eitrigen und blutigen Auswurf.

I Das schleimige Sputum kann rein-schleimig oder wässrig-schleimig sein. Der rein-schleimige Auswurf ist durchscheinend, von weißlichgrauer Farbe und zäher, fadenziehender Konsistenz. Das wässrig-schleimige Sputum ist flüssiger, weniger zähe als das rein-schleimige und häufig so reich an Luftblasen, daß die ganze Auswurfsmasse von einer Schaumdecke überzogen ist. Die schleimigen Teile liegen als Flocken oder Ballen in der flüssigen Grundsubstanz.

II Das schleimig-eitrige Sputum kann schleimig-eitrig, innig gemengt oder eitrig-schleimig, nicht homogen sein. Im ersteren Falle bildet der Auswurf eine ziemlich homogene Masse von undurchsichtigem gelbweißem Aussehen und immer noch relativ zäher, klebriger Konsistenz. List bei Betrachtung auf dunklem Unter-

grund im auffallenden Licht kann man die durchscheinenden schleimigen Partien von den rein-eitrigen deutlich unterscheiden. Die letzteren durchziehen als Streifen die schleimige Masse. Die innige Vermischung von Eiter und Schleim weist darauf hin, daß beide der gleichen Stelle des Respirationstraktes ihre Entstehung verdanken.

Im eitrig schleimigen, nicht homogenen Sputum überwiegt der Gehalt an Eiter die schleimigen Bestandteile. Die eitrigen grünlichgelben, undurchsichtigen Partien sind nicht mit dem Schleim vermischt, sondern bilden entweder ründliche munzenförmige Ballen (Sp. rotundum) oder fließen nach längerem Stehen zusammen, senken sich zu Boden und es entsteht das Bild des geschichteten Auswurfes.

III. Der rein eitrige Auswurf ist von grünlich gelber Farbe, homogenem Aussehen und dickflüssiger Konsistenz. Die ihn charakterisierende Trennung in zwei Schichten ist bereits erwähnt.

IV. Der blutige Auswurf 1. Rein blutiges (hamoptisches) Sputum ist entweder flüssig, hellrot schaumig oder bei der Entleerung bereits zu dicken Klumpen geronnen. Schwierig ist mitunter die Frage nach der Herkunft des Blutes zu beantworten; aus dem Aussehen des Blutes allein ist die Differentialdiagnose zwischen Hamoptoe und Haematemese nicht ohne weiteres zu stellen. Das aus dem Magen stammende Blut zeigt zwar häufig ein charakteristisches schwarzbraunes, schokoladenfarbendes Aussehen, kann jedoch auch hellrot, dem arteriellen ähnlich sein. Selbst die Beimischung von Mageninhalt ist nicht immer entscheidend, da auch bei Hamoptoe Brechbewegungen ausgelöst werden können.

2. Blutig tingiertes Sputum: Das Blut durchzieht in Form von Flocken oder Streifen den schleimigen schleimig-eitrigen oder eitrigen Auswurf.

3. Innig mit Blut gemischtes Sputum. Es wechselt in seinem Aussehen je nach der Qualität des dem Blute beigemischten Auswurfes.

a) Das schleimig blutige Sputum ist von gelber bis rostbrauner Farbe und zäher Konsistenz. Es ist charakteristisch für die Entzündung der Alveolen und kleinsten Bronchien.

b) Das serös blutige Sputum ist dünnflüssig, enthält zahlreiche Luftblasen und zeigt eine dunkelbraune bis schwarze Farbe. sein Aussehen wird als pflaumenbrunbeähnlich bezeichnet.

c) Das eitrig blutige, innig gemischte Sputum weist auf das Bestehen von großen Hohlräumen hin, in denen es durch Mischung des eitrigen Sekretes mit mehr oder weniger veränderten Blutbestandteilen entsteht. Es werden zwei Formen dieses Sputums unterschieden, je nachdem es bald nach der Sekretion oder erst nach längerer Retention in den Hohlräumen entleert wird. Im ersteren Falle werden luftleere munzenförmige Ballen mit schmutzgrünem Zentrum und deutlich rot gefärbter Peripherie ausgehustet, die im Wasser rasch zu Boden sinken (Sp. globosum fundum petens). Im letzteren Falle zeigt der Auswurf ein homogenes Aussehen und eine schmutzgrüne bis lehmbräune Farbe (Langengangran, Bronchiektase).

Besonders hervortretende Bestandteile des Sputums.

Die sogenannten Linsen (Corpuscula ovalia) und stecknadelkopf bis linsengroße, undurchsichtige Gebilde

von gelblichweißer Farbe und karger Konsistenz. Sie lassen sich aus dem eitrig-schleimigen Sputum, in dem sie gewöhnlich angetroffen werden ohne Mühe isolieren. Sie entstammen den Kavernen und sind von diagnostischer Bedeutung, weil sie gewöhnlich sehr reich an Tuberkelbacillen und elastischen Fasern sind. Diese Linien dürfen nicht mit den ihnen ähnlich sehenden Tomillarpfropfen und Speiseresten verwechselt werden. Durch die mikroskopische Untersuchung werden sie von diesen unterschieden.

Dittrichsche Körnchen sind grauweiße Hirsekorn- bis bohnen große, leicht zerdrückbare Gebilde von karger Konsistenz und üblem Geruch, die sich im Sediment des Sputums bei Lungengangran und toxischer Bronchitis finden.

Fig. 2



Fibringerinnsel

Gewebestücke sind bei ulcerativen Prozessen der Respirationsorgane im Auswurf nachweisbar. Am häufigsten kommen sie im Sediment des gangranösen Sputums vor und erscheinen als zottige, schwarze oder schwarzgraue Fetzen, die bei der mikroskopischen Untersuchung als abgestorbenes Lungengewebe erkannt werden. Geschwulststücke können sich bei Neoplasmen der Lungen im Auswurf finden, ihr Vorkommen ist jedoch selten. Zu ihrer Identifizierung ist die histologische Untersuchung notwendig.

Curschmannsche Spiralen erscheinen als geschlingelte, gegen die übrige formlose Sputummasse scharf abgegrenzte Fäden von grauweißer Farbe und auffallend fester Konsistenz (Fig. 3).

Fibringerinnsel (Fig. 2) sind weiße, baumartig verzweigte, röhrenförmige Bildungen, die mehrere Zentimeter lang sein können. Sie entstehen infolge Fibringerinnung in den Bronchien, deren Abgüsse

sie darstellen. Sie dürfen nicht mit makroskopisch ähnlich aussehenden, aber ungedicktem Schleim bestehenden Gerinnseln verwechselt werden, die viel häufiger als echte Fibringerinnsel im Auswurf auftreten. Durch mikroskopische und mikrochemische Untersuchung können beide voneinander unterschieden werden. Man bekommt die Verärgungen sehr leicht zu Gesicht, wenn man die aus dem Sputum herabgehenden Gerinnsel in Wasser auswascht.

Die Gerinnsel erscheinen als sandkorngroße ziemlich feste Flocken von gelber, gelbgrüner oder auch schwarzer Farbe. Die Gerinnsel bestehen aus leicht zerdrückbare Körnchen, die gallertig aussehen.

Die Gerinnsel können auch kleine grauschwarze Körnchen, die Kalkkonkremente von gelblicher Oberfläche und harter Konsistenz sein. Sie entstehen entweder in tuberkulösen Kavernen und stellen verkalkte Gewebepartikelchen dar. In Lungen, Lymphdrüsen, Pleura oder in anderen Organen handelt es sich meist um Tuberkel, die aus kohlensaurem und phosphorsäurem Kalk bestehen. Die Gerinnsel sind bei der chemischen Untersuchung

sehr häufig dem Auswurf beigemengt und bestehen aus den oberen Luftwegen.

Die mikroskopische Untersuchung

Die Partikel des Sputums, die einer Untersuchung im mikroskopischen Präparat unterzogen werden sollen, werden am besten mittels zweier Plättchen, die vor und nach jedem Gebrauch ausgeglüht werden, aus der sie umgebenden Sputummasse isoliert, auf dem Objektträger ausgebreitet mit dem Deckglase bedeckt und zunächst bei schwacher (Leitz, Objektiv 3) und dann bei starker Vergrößerung (Leitz, Objektiv 7) untersucht.

Mit der Untersuchung des frischen Präparates werden häufig mikrochemische Reaktionen verbunden. Die am meisten benutzten Reagenzien sind 30%ige Essigsäure und 10% Kalilauge. Um ein Eindringen der Reagenzien in das Untersuchungsmaterial zu ermöglichen, werden beide auf dem Objektträger miteinander verrieben und dann erst mit dem Deckglase bedeckt.

Der Untersuchung im ungefärbten Präparat werden auch die Gebilde unterworfen, die bei der makroskopischen Durchmusterung des Sputums, das in eine auf dunklem Grunde stehende Schale ausgegossen ist, besonders auffallen.

Die Curschmannschen Spiralen (Fig. 3 und 4) die wegen ihrer zähen Konsistenz schwer zwischen Objektträger und Deckglas zerquetscht werden können, lassen bei durchfallendem Licht schon makroskopisch eine deutliche Schlingung erkennen. Im mikroskopischen Bilde präsentieren sie

als durchscheinende aus zahlreichen dichten und zarten Windungen bestehende Spiralen in deren Achse gewöhnlich ein heller Zentralfaden verläuft. Sie sind in der Regel dicht mit Leukocyten bedeckt zwischen denen sich oft *Charcot*

Fig. 3



Curschmannsche Spiralen Makroskopisch nach *Leukarts*.
 — — (Aus *Kowarski Klinische Mikroskopie*)

Leydensch Kristalle finden. Gewöhnlich tritt erst auf Zusatz von Essigsäure die Struktur der Spiralen deutlich hervor.

Die Fibringerlnnsel setzen sich aus Bündeln parallel gelagerter lichtbrechender Fasern zusammen zwischen welchen mehr oder weniger zahlreiche Leukocyten sowie rote Blutkörperchen und mitunter auch *Charcot Leydensch* Kristalle sichtbar sind. Die ihnen makroskopisch ähnlich sehen

den Schleimgerinnsel bestehen dagegen aus einer homogenen Grundsubstanz in der weiße Blutkörperchen eingebettet sind. Auf Zusatz von Essigsäure hellen sich die fibrinösen Gerinnsel auf während die Schleimgerinnsel sich trüben ihre Grundsubstanz nimmt gleichzeitig ein streifiges Aussehen an (Tafel X Fig. 1)

Die Gewebsetzen die im gangränösen Sputum auffallen enthalten Bindegewebsfasern deren alveoläre Anordnung sie als Reste abgestorbenen Lungengewebes er

Fig. 4

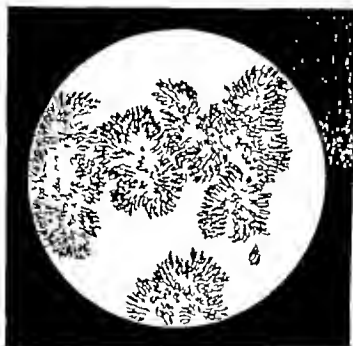


Spirale aus dem Sputum.
(Mikroskopisch vergrößert, nach v. Jaksch)

kennen läßt selten sind in ihnen elastische Fasern nachweisbar. Die Bindegewebsfasern pflegen von einer großen Masse verschiedenartiger Bakterien fettigem Detritus Fettsäurenadeln Tripelphosphaten Hämatoidinkristallen und dunklen Pigmentkornern umgeben zu sein. Die Parenchymsetzen die beim subakuten oder chronischen Lungenabsceß im Sputum vorkommen enthalten dagegen fast stets elastische Fasern einzeln oder in alveolärer Anordnung außerdem enthalten sie zahlreiche Bakterien fettig degenerierte Zellen und Fettsäurenadeln mitunter auch Hämatoidinkristalle (Tafel VII) und die sonst selten im Auswurf vorkommenden Cholesterintafeln

Die Ditttrichschen Pfropfe bestehen hauptsächlich aus Detritusmasse Fettsäurenadeln und einer außerordentlichen Anzahl verschiedenartiger Mikroorganismen darunter fadenförmige Stäbchen und Spirillen und in seltenen Fällen Flagellaten (*Trichomonas hominis*)

Fig 5



Actinomycesdrusen nach *Leubus* (Aus *Kewarski* Klinische Mikroskopie)

Die Tonsillarpfropfe setzen sich aus Plattenepithelien Detritus Bakterien und Fettsäurenadeln zusammen Unter den zahlreichen Mikroorganismen finden sich fast stets auch massenhaft *Leptothrix*fäden die sich meist auf Zusatz von einem Tropfen *Lugolscher* Lösung blau färben

Echinokokkusbestandteile werden (Tafel VII Fig 2) expektoriert wenn der Blasenwurm sich in den Lungen selbst

angesiedelt hat oder aus der Nachbarschaft durchgebrochen ist. In dem bei Lungenechinokokkus oft blutig, bei Kommunikation mit der Leber gallig oder ockergelb gefärbten Auswurf finden sich mitunter unversehrte Blasen mit wasser hellem Inhalt in anderen Fällen sieht man die charakteristischen Haken oder Membranfetzen die auf Zusatz von Kalilauge die für Echinokokkusmembranen typische parallele Streifung erkennen lassen.

Aktinomyceskörner (Fig. 6) Die bei der makroskopischen Untersuchung auffallenden gelben harten Aktinomyceskörner erscheinen bei schwacher Vergrößerung betrachtet als rundliche oder unregelmäßige höckrige feinkörnige maulbeerartige Gebilde. Zerdrückt man sie mit dem Deckglase so erhält man bei stärkerer Vergrößerung ein sehr charakteristisches Bild. Von einem aus einer Fadenmasse bestehenden dichten Zentrum gehen sternförmig zahlreiche glänzende Fäden aus die sich vielfach verzweigen und mit kolbenförmigen Anschwellungen enden. In der zentralen Fadenmasse finden sich nicht selten Anhäufungen von schrauben stäbchen und kolkenartigen Gebilden. Neben diesen sogenannten Aktinomycesdrüsen finden sich graue schleimklümpchenähnliche Körner die von weicherer Konsistenz als die Drüsen sind und aus verzweigten Fäden bestehen.

Die bei Lungenmykose im Sputum nachweisbaren kleinen grauschwarzen Körnchen bestehen aus Schimmelpilzen (*Aspergillus*- und *Mukor*arten).

Die Lungensteine werden zur mikroskopischen Untersuchung in Salpetersäure entkalkt. Das zurückbleibende organische Gerüst wird in Alkohol gehärtet und in Paraffin eingebettet. Es gelingt nicht selten in den gefärbten Präparaten Tuberkelbacillen nachzuweisen.

Das ungefärbte Präparat gibt ferner Aufschluß über die zelligen Elemente des Auswurfes das Vorhandensein von elastischen Fasern und kristallinen Gebilden.

Zellige Elemente des Auswurfes

1 **Epithelzellen** Da das Sputum ein Sekretionsprodukt der verschiedenen Teile des Respirationstractus darstellt, können Epithelien aus allen seinen Abschnitten in den Auswurf gelangen. Es finden sich

a) **Große polygonale Plattenepithelien**, die aus der Mundhöhle, dem Rachen, der Luftröhre oder von den Stimmbändern stammen. Die Plattenepithelien sind oft mit Kohlenpigment beladen.

b) **Zylinderzellen** können in der Pars respiratoria der Nase, im Larynx oder in den Bronchien zur Abstoßung gekommen sein. Die Zylinderzellen aus der Nase sind oft mit Flimmerhaaren besetzt.

c) **Alveolarepithelien** kommen stets stark degeneriert im Sputum zu Gesicht und sind gewöhnlich nicht mehr mit Sicherheit als solche zu erkennen. Man bezeichnet als Alveolarepithelien ein oder mehrkernige Zellen, die ungefähr die fünf bis sechsfache Größe der weißen Blutkörperchen besitzen und bald rundlich oder oval, bald polygonal gestaltet sind. Ihr Protoplasma ist häufig von stark lichtbrechenden Fetttropfchen oder mattglänzenden Myelinkugeln erfüllt, die zu großen Tropfen zusammenfließen können und dann die eigentümlichen Myelinformen darstellen. Ferner findet man in diesen Zellen oft schwarzes Kohlenpigment eingeschlossen (Pigmentzellen).

2 **Leukocyten** finden sich in wechselnder Anzahl in jedem Sputum in großer Menge als Hauptbestandteil des Eiters. Sie sind meist mehr oder weniger degeneriert, vorwiegend mehrkernig und zeigen gewöhnlich neutrophile Granulationen. Zahlreiche eosinophile Leukocyten sind besonders im Auswurf von Asthmatikern nachweisbar (Färbung nach May und Grünwald oder Leishman [vgl. Kapitel IX]). Die Leukocyten beherbergen ebenso wie die sogenannten Alveolarepithelien häufig Pigmentkörner und zwar sowohl Kohlenpigment als auch veränderten Blutfarbstoff (s. u.).

3 Rote Blutkörperchen finden sich vereinzelt in jedem Auswurf eine diagnostische Bedeutung kommt ihnen nicht zu Erst wenn sie in großer Menge auftreten weisen sie auf Blutungen in den Respirationsorganen hin Sie können in Form und Farbe vollkommen intakt sein in anderen Fällen aber erscheinen sie aufgebläht oder eingeschrumpft oder haben ihren Farbstoff verloren (Schatten)

4 Herzfehlerzellen sind mit braungelben Pigmentkörnern angefüllte Zellen die bei der braunen Lungeninduration der Herzfehler aber auch bei pneumonischen Vorgängen Infarkten und nach Hämoptoe im Sputum vorkommen Der von den Zellen aufgenommene Farbstoff ruht von in den Alveolen zerfallenen roten Blutkörperchen her und ist veränderter eisenhaltiger Blutfarbstoff (Hämosiderin)

Nachweis des Hämosiderins Zu einer Sputumflocke trocken oder feucht, werden je ein bis zwei Tropfen verdünnter Salzsäure und frisch bereiteter 2%iger Ferrocyankaliumlösung zugesetzt Nach kurzer Zeit färben sich die Pigmentkörner der Herzfehlerzellen blau. (Berlinerblaureaktion) Kohlenpigment, das bei Anthrakose und besonders beim Durchbruch anthrakotischer Drüsen in großer Menge im Auswurf vorhanden ist, gibt diese Reaktion nicht

5 Große Fettkörnchenzellen (Fettkörnchenkügelchen) findet man oft bei Lungentumoren. Es ist jedoch nicht gestattet auf Grund dieses Befundes allein die Diagnose zu stellen da derartige Gebilde auch bei anderen Prozessen vorkommen

Elastische Fasern (Tafel III Fig 1)

Das Material zur Untersuchung auf elastische Fasern muß aus den undurchsichtigen eitrigen Stellen des Sputums entnommen werden. Fast regelmäßig finden sie sich in den sogenannten Linsen.

Um das Aufsuchen der elastischen Fasern zu erleichtern, verreibt man das Untersuchungsmaterial auf dem Objektträger mit einem Tropfen 10%iger Kalilauge und erwärmt das mit dem Deckglas bedeckte Präparat leicht über kleiner Flamme. Hierdurch werden die zelligen Elemente zerstört, während die elastischen Fasern erhalten bleiben Gelingt ihr Nachweis auf diese Weise nicht so bringt man einige Sputumballen in ein Reagenzglas, fügt die gleiche Menge 10%iger Kalilauge hinzu erhitst unter Umschütteln ohne zu kochen, bis das Ganze homogen erscheint, verdünnt mit der vierfachen Menge Wasser

und zentrifugiert. Aus dem Sediment wird ein Tropfen auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglase bedeckt und bei schwacher Vergrößerung durchmustert.

Die elastischen Fasern erscheinen stark lichtbrechend eigentümlich geschwungen scharf begrenzt doppelt konturiert und häufig verastelt. Sie liegen einzeln in längsfasrigen Bündeln oder zeigen netz- oder maschenförmige (alveoläre) Anordnung.

Fig. 6



Asthmakristalle nach v. Leyden. Vergr. 100

Es ist daran zu denken, daß auch aus der Nahrung elastische Fasern in den Auswurf gelangen können. Diese sind aber stets dicker als die elastischen Fasern des Lungengewebes und niemals alveolär angeordnet. Von langen Fettsäurenadeln, die häufig im Sputum vorkommen, sind die elastischen Fasern leicht zu unterscheiden, wenn man das Präparat unter Zusatz eines Tropfens 30%iger Essigsäure erwärmt. Die Fettsäurenadeln verwandeln sich dann in kleine Fetttröpfchen.

Von kristallinischen Gebilden sind besonders die *Charcot Leydenschen* Asthmakristalle von diagnostischer Bedeutung (Fig. 6). Sie erscheinen als wasserhelle glänzende spitze Oktaeder. Besonders zahlreich sind sie nachweisbar wenn man das Sputum eine Zeitlang offen stehen läßt. Auch unter dem Mikroskop kann man in der mit dem Deckglas bedeckten Sputumflocke ihr Aufschließen beobachten.

Außerdem finden sich *Fettsäurenadeln* (s. o.) Kristalle von oxalsaurem Kalk, Tripelphosphate, Cholesterintafeln sowie Leucin und Tyrosinkristalle schließlich Hämatoidinkristalle in Form rotgelber oder rubinroter rhombischer Tafeln oder geschwungener Nadeln die frei liegen oder von den Tafeln buschelförmig ausgehen.

Bakteriologische Untersuchung des Auswurfes.

Vorbereitung des Auswurfs zur Untersuchung.

Für die Untersuchung muß das eigentliche Bronchial bzw. Lungensputum von den ihm beim Passieren der oberen Luftwege beigemischten Sekreten getrennt werden, da diese häufig normalerweise gerade die für Lungenerkrankungen bedeutungsvollen Mikroorganismen enthalten.

Diesem Zwecke dienen die *Pfeiffersche* und die *Koch-Kittarsosche Methode*.

Nach dem Vorschlage *Pfeiffers* wird dem Sputum, das in eine sterile aus dunkler Unterlage stehende Doppelschale ausgegossen ist, eine möglichst dichte, undurchsichtige Stelle entnommen und auf dem Deckel der Schale ausgebreitet. Mit Hilfe zweier Platinspatel wird diese Flocke auseinandergezerrt und aus ihrer Mitte ein rein eitriges Punktchen (Kernflocke) isoliert.

Nach der *Koch-Kittarsoschen Methode* wird ein Sputumballen in einer Reihe mit sterilem Wasser gefüllter Schalen nacheinander unter starkem Umschwenken mittels kräftiger Platinnadel ausgewaschen. Hierbei werden die Sputumballen rasch kleiner und lösen sich schließlich in kleinste Partikel auf. Von diesen wird eine kleine Eiterlinse zur Untersuchung entnommen. *Czaplewski* hat das Verfahren dahin modifiziert, daß er die Sputumflocken nacheinander in drei Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung ausschüttelt. Nach dem letzten Auswaschen kann man die kleinen Flockchen aus dem Waschwasser auszentrifugieren.

Die Flocken, die auf die eine oder andere Weise von dem anhaftenden Schleim befreit sind, können zur Herstellung von Ausstrichpräparaten, zum Anlegen von Kulturen und zum Tierversuch verwandt werden.

I Untersuchung im gefärbten Ausstrichpräparat. Die Flocke wird mittels Platinspatels entweder direkt oder bei

fibrinreichem Sputum nach Hinzufügen eines Tropfens sterilen Wassers auf dem mit der *Cornatschen* Pinzette gefaßten Deckglase oder direkt auf dem Objektträger ausgestrichen. Nachdem die Präparate an der Luft getrocknet und durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme fixiert sind, werden sie in folgender Weise gefärbt:

1. Nach einer der Methoden, welche der Tuberkelbacillenfärbung dienen (vgl. Färbemethoden)

2. Färbung mit verdünntem Carbol fuchsin (1:10)

Das Präparat wird über kleiner Flamme bis zur Dampfbildung erwärmt und sofort abgespült, da in zu stark gefärbten Präparaten Einzelheiten schwer zu erkennen sind.

3. Färbung nach *Gram* (vgl. Färbemethoden)

Die zuerst genannte Färbung dient allein dem Nachweise von Tuberkelbacillen.

Das mit verdünntem Carbol fuchsin gefärbte Präparat gibt Aufschluß

a) über die Herkunft des Sputums

b) über die mit Ausnahme der Tuberkelbacillen in ihm vorhandenen Bakterien

c) über die Verwertbarkeit des bakteriologischen Befundes

Die Herkunft des Sputums ist nicht immer mit Sicherheit aus dem mikroskopischen Bilde zu bestimmen. Einen Anhaltspunkt bieten die im Auswurf nachweisbaren Epithelzellen, die von *Czaplewski* als „Leitzellen“ bezeichnet worden sind.

Entsteht das Sekret dem Munde, dem Rachen oder Nasenrachenraum, so sieht man im Präparat zahlreiche große, meist dicht mit Bakterien besetzte Plattenepithelien. Daneben je nach dem Stadium der Entzündung mehr oder weniger zahlreiche Leukocyten.

Das durch die Choanen aspirierte und ausgehustete Nasensekret zeigt neben einer wechselnden Menge Leukocyten Zylinderzellen, die mitunter noch mit Flimmerhaaren besetzt sind und aus dem gewöhnlich beigemischten Rachenauswurf herrührende Plattenepithelien; ferner findet man stets entsprechend der reichen Bakterienflora von Nase und Rachen große Mengen verschiedenartiger Mikroorganismen.

Der aus dem Kehlkopf und der Trachea stammende Auswurf enthält kleine meist mit Kohlenpartikeln beladene Plattenepithelzellen. Es fehlt das den Rachenauswurf charakterisierende Bakterien-

Der *Bronchial* und *Lungenauswurf* enthält neben den Leukocyten Zylinderepithellen und die ihn vor allem charakterisierenden Pigmentzellen.

Da außer Tuberkelbacillen nahezu alle bei der Sputumuntersuchung in Betracht kommenden Mikroorganismen mit verdünnten Anilinfarbstoffen leicht färbbar sind, werden sie in dem mit verdünntem Carbol-fuchsin gefärbten Präparat zur Darstellung gebracht.

Findet sich in dem aus den tieferen Luftwegen stammenden, bald nach der Entleerung untersuchten Auswurf bei wiederholter Prüfung stets eine Bakterienart in großer Menge so kann man annehmen, daß sie mit dem Krankheitsprozeß in ätiologischer Beziehung steht. Zeigt das Präparat ein Gemisch verschiedenartiger Bakterien so ist der Befund nur dann diagnostisch verwertbar wenn das Sputum möglichst frisch untersucht wird und so festgestellt werden kann, daß sie bereits bei der Entleerung des Auswurfes in ihm vorhanden waren und nicht erst nachträglich darin gewachsen sind.

Das nach der *Gramschen Methode* gefärbte Präparat erleichtert einmal das Auffinden der nach *Gram* färbbaren Bakterien. Ferner zeigt es wie die im Carbol-fuchsinpräparat gefundenen Bakterien sich der *Gramschen Methode* gegenüber verhalten und dient somit zu ihrer Identifizierung.

II Zu Kulturversuchen wird die gewaschene Flocke (s. o.) entweder direkt oder nach Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung auf den geeigneten Nährböden ausgestrichen. Vermutet man viele entwicklungsfähige Keime so streicht man zur Erzielung isolierter Kolonien dieselbe Flocke mit dem *Drigalski Spatel* über mehrere Platten hintereinander aus oder legt Strichkulturen an.

III Tierversuch: Die gewaschene Sputumflocke wird dem Versuchstier entweder direkt in eine Hauttasche geimpft oder nach Aufschwemmung in steriler 0-85%iger Kochsalzlösung subcutan oder intraperitoneal injiziert.

Untersuchung auf Tuberkelbacillen.

Morphologische und tinktorielle Eigenschaften der Tuberkelbacillen. Die Tuberkelbacillen erscheinen im ungefärbten Zustande als kurze schlanke unbewegliche Stäbchen die zuweilen stark

lichtbrechende Körnchen enthalten. Sie nehmen den Farbstoff schwer auf, halten ihn dann aber um so fester, sie färben sich daher nur unter Erwärmen mit konzentrierten Farbstoffen, denen eine Beize (Alkali, Carboisäure) zugesetzt ist, und werden durch die Behandlung mit Säure und Alkohol nicht entfärbt, sie sind saurefest. Diese Eigenschaft teilen sie mit den Leptobacillen und einer großen Reihe saprophytischer Bakterien, die im Sputum im Harn (Smegmabacillen) in der Milch und ihren Produkten auf Gräsern usw. gefunden werden (Gruppe der säurefesten Bakterien). Ihre Säurefestigkeit verdanken diese Bakterien ihrem Gehalte an Fettsubstanzen.

Kulturelle Eigenschaften der Tuberkelbacillen. Die Tuberkelbacillen wachsen besonders in der ersten Generation gut auf den Eiernährböden (nach *Lubenau Hohn Besredka* usw. vgl. Kapitel VII) ferner auf erstarrtem Serum, dem man bis 3% Glycerin zusetzen kann, oder auf Glycerinkartoffeln. In späteren Generationen gelingt ihre Zucht auch gut auf 2 bis 4%igem Glycerinagar und 2%iger Glycerinbouillon. Die Kulturen werden bei 37° gehalten, sie wachsen langsam. Auf Glycerinagar bilden sich krumlige weißgelbliche trockene Schollen, die zu dicken Körnern oder Warzen auswachsen und allmählich zu einer dicken Membran konfluieren. In älteren Kulturen zeigt der Bakterienrasen gelb bis gelbbraunliche Farbe und stark gefaltete Oberfläche. In Glycerinbouillon wachsen die Tuberkelbacillen wegen ihres starken Sauerstoffbedürfnisses nur an der Oberfläche. Die Züchtung muß daher in breiten Kölbchen vorgenommen werden. Man bringt das Impfmaterial so auf den Nährboden, daß es auf seiner Oberfläche schwimmt (s. auch S. 40).

Die Kultur der Tuberkelbacillen gelingt nur dann sicher, wenn das Aussaatmaterial keine anderen Bakterien enthält (vgl. S. 40).

Untersuchung an Tuberkelbacillen im gefärbten Sputumpräparat (Tafel III Fig. 2). Man entnimmt das Material zu den Präparaten stets

aus mehreren suspekten Stellen des Sputums besonders ist auf die sogenannten Linsen zu fahnden. Von den zahlreichen Methoden die zur Tuberkelbacillenfärbung angegeben sind, ist die Färbung nach *Ziehl Neelsen* am meisten zu empfehlen. In Präparaten die nach dieser Methode gefärbt sind erscheinen die Tuberkelbacillen rot die anderen Bakterien und die zelligen Elemente blau gefärbt. Es ist ratsam, mit stark verdünnter Methylenblaulösung ganz kurz nachzufärben da in intensiv nachgefärbten Präparaten Tuberkelbacillen verlorengehen. Die Ausbeute an Tuberkelbacillen ist meist erheblich reichlicher wenn man anstatt mit Methylenblau mit 1%iger Pikrinsäure zwei Minuten nachfärbt. Die Tuberkelbacillen präsentieren sich als schlanke Stäbchen von wechselnder Länge sie erscheinen nicht immer gerade, sondern oft leicht gekrümmt. Sie liegen in Haufen einzeln oder zu zweien parallel oder in Winkelstellung zueinander, oft sind sie nicht gleichmäßig gefärbt, sondern ungleichmäßig körnig. Man sieht farblose Stellen zwischen gefärbten Körnern so daß die Bacillen perlschnurartig erscheinen. Ferner findet man einzelne kleine blau bis schwarzrot venös gefärbte Gebilde die als Fragmente von Bacillen gelten von *Spengler* Splitter genannt. Sehr selten ist im Sputum das Vorkommen von Fadenformen mit echten Verzweigungen und kolbig verdickten Enden beobachtet.

Die Menge der im Präparat nachweisbaren Bacillen gestattet keinen Rückschluß auf den Verlauf der Erkrankung, da ihre Anzahl sowohl in den einzelnen Teilen desselben Auswurfes wie in den zu verschiedenen Tageszeiten entleerten Sputumportionen wechselnd ist.

Mack wies durch eine modifizierte Gramfärbung (vgl. Kapitel XII) eine nach *Ziehl* nicht färbbare granulare Form der Tuberkelbacillen nach. Die *Mackschen* Granula erscheinen als bläulich-schwarz gefarbte Körner vom Aussehen feinsten Kokken, sie sind in ihrer Größe wechselnd zu weissen staubförmig. Die Granula liegen isoliert, in Haufen oder in Reihen angeordnet im Stäbchenverband. Die Lucken zwischen den Körnern der granulierten Stäbchen sind farblos oder sehr schwach grau gefärbt, so daß man gerade erkennen kann, daß ein gemeinsamer Zellkörper mehrere hintereinander liegende Granula umschließt.

Durch die Doppelfärbung nach *Weß* können die saureste Form der Tuberkelbacillen und die *Mackschen* Granula gleichzeitig dargestellt werden (vgl. Kapitel XII). In diesen Präparaten erscheinen die Tuberkelbacillen rötlich gefärbt und enthalten dunkelblau-schwarz gefarbte Körner. Die isolierten Granula sind größer als in den nach *Gram* gefärbten Prä-

paraten und von einem schmalen rötlichen Hof umgeben. Zwischen den in Haufen liegenden Granula ist eine rötlich gefärbte Grundsubstanz sichtbar.

Der Nachweis der *Mucösen* Granula im Sputum ist für die Praxis nicht verwertbar, weil sie hier leicht mit Kokken verwechselt werden können. Eine diagnostische Bedeutung besitzen sie nur dann, wenn in dem Untersuchungsmaterial, in dem sie gefunden werden, andere Bakterien nicht vorkommen, z. B. im Eiter kalter Abszesse, in den käsigen Herden der Drüsen, zumal gerade hier die mikroskopische Untersuchung auf saurefeste Stäbchen fast stets negativ ausfällt.

Sedimentierungsverfahren.

Das Verfahren hat den Zweck, das Sputum zu verflüssigen und zentrifugierbar zu machen. Die in der Anwurfmasse einzeln und zerstreut liegenden Bacillen werden im Sediment gesammelt und so leichter nachweisbar. Es ist eine große Reihe von Sedimentierungsmethoden angegeben worden, die größtenteils durch das Antiforminverfahren verdrängt worden sind.

Antiformin ist ein Gemisch von Natrium hypochlorosum und Alkalihydrat in bestimmtem Verhältnisse. Es vermag Schleim, Sputum, Kot, Haut, Haare, Wolle, selbst Keratin und Chitin bis auf kaum sichtbare Reste aufzulösen. Ebenso verfallen die verschleidensten Bakterien in wässriger Aufschwemmung schon bei Einwirkung 2- bis 5%iger Lösungen des Antiformins der Auflösung. Eine Ausnahme machen die Tuberkelbacillen und andere saurefeste Stäbchen, die sich selbst konzentrierten Lösungen gegenüber resistent erweisen. Sie werden von 15- bis 20%igen Lösungen erst nach 12 bis 14tündiger Einwirkung abgetötet, ihre Färbbarkeit wird erst nach langer Zeit beeinträchtigt.

Beim Sedimentierungsverfahren muß frisch destilliertes Wasser verwandt werden, da in Leitungswasser und langer aufbewahrtm destilliertem Wasser nicht selten saurefeste Stäbchen gefunden werden, die in das Sediment gelangen und Tuberkelbacillen vortauschen können.

In einer sterilen Flasche versetzt man 1 Teil Sputum mit 1 bis 2 Teilen 25%iger Antiforminlösung, schüttelt gründlich und läßt die Mischung bei Zimmertemperatur im Brutschrank oder im Wasserbad von 56° bis zur vollständigen Lösung stehen. Dann wird die Antiforminlösung zwei bis dreifach mit 80%igem Alkohol verdünnt und eine halbe Stunde in einer Zentrifuge mit zirka 2000 Umdrehungen zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird restlos abgeseigt, wobei die Öffnung des Gläschens senkrecht nach unten gehalten wird. Das Gläschen wird nicht wiederaufgerichtet, sondern mit der Öffnung nach unten unmittelbar senkrecht auf eine aufsaugende Unterlage (Fließpapier oder Zellstoff) für fünf bis zehn Minuten aufgestellt. Dann wird mit einer Öse der geringe Bodensatz

von allen Seiten der Glaskuppe zusammengekratzt und in nicht zu dünner Schicht auf kleinem Raum auf dem Objektträger ausgestrichen

Steht keine schnell gehende Zentrifuge zur Verfügung, so empfiehlt sich die Anwendung der Antiforminlignolmethode

1 Zn 10 cm^3 Sputum kommen 20 cm^3 20%iges Antiformin.

2 Stehenlassen bis zur hinreichenden Homogenisierung und von Zeit zu Zeit umschütteln

3 Zusatz von 20 cm^3 frisch destillierten Wasser Umschütteln

4 Zusatz von 2 cm^3 Lignol und Durchschütteln, bis dichte Emulsion entstanden ist

5 Einbringen in Wasserbad von 60°

6 Nach klarer Abscheidung des Lignols Herausnahme aus dem Wasserbad

7 Zusatz von zirka 0.5 bis 1 cm^3 Alkohol den man vorsichtig an der Innenseite des Glases herunterfließen läßt

8 Unverzügliche Entnahme beliebig vieler Ösen aus der Grenzschicht zwischen Antiforminlösung und Lignol und Ausstreichen auf einen erwärmten Objektträger

9 Antrocknen des Materials hoch über einer Flamme Fixieren und Färben

Gut bewahrt hat sich uns folgendes Anreicherungsverfahren Es lieferte uns oft bessere Resultate als die Antiforminmethode Zu dem mit einigen Kubikzentimetern Aqua dest. bis zur feinen Verteilung geschüttelten Sputum werden 1 bis 2 cm^3 gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung und einige Tropfen 10 iger Kalilauge zugesetzt Dann wird bis zur vollständigen Auflösung des Sputum erhitzt, nicht gekocht Nach dem Abkühlen wird ein Drittel des Volumens Chloroform hinzugefügt und energisch zentrifugiert Zwischen homogenisierter Flüssigkeit und Chloroform bildet sich ein weißer Ring der mit einer Pipette entnommen und auf einem angewärmten Objektträger ausgestrichen wird

Die Züchtung der Tuberkelbacillen aus dem Sputum gelingt sicher nach der von *Hohn* angegebenen Methode 1 bis 2 cm^3 Sputum werden je nach der Menge der Begleitbakterien mit 10 cm^3 6- bis 10%iger Schwefelsäure (hergestellt aus chemisch reiner Schwefelsäure D. A. B. VI = 94 bis 98%) versetzt und gut durchgeschüttelt. Nach 20 Minuten langer Einwirkung wird zentrifugiert und das ungewaschene Sediment direkt auf dem *Hohnschen* Eiernährboden (vgl. Kapitel XII) ausgestrichen Es müssen stets mehrere Röhrchen beimpft werden. Guter Verschuß der Kulturröhrchen mit Zellstopfen die mit Ceresin durchtränkt sind ist erforderlich

um ein Austrocknen des Nährbodens zu verhüten. Nach zehntägiger Bebrütung bei 37° erkennt man mit der Lupe eben sichtbare Kolonien.

Man braucht jedoch das Auftreten sichtbarer Kolonien nicht abzuwarten, da man im positiven Falle bisweilen schon am vierten Tage im Kulturstrich kleine Haufen von säurefesten Bacillen mikroskopisch nachweisen kann.

Gelingt auf diese Weise die Züchtung nicht, so kann man hierzu den Weg über den Tierversuch wählen.

Zum **Tierversuch** benutzt man halberwachsene Meerschweinchen, die empfindlicher sind als ältere Tiere. Die Impfung wird subcutan in die linke Kniefalte vorgenommen. Nachdem die Impfstelle rasiert und gründlich mit Alkohol abgerieben ist, wird eine gewaschene Sputumfloccle entweder direkt in eine Hauttasche gebracht oder nach Aufschwemmung in steriler physiologischer Kochsalzlösung subcutan injiziert.

Die Meerschweinchen werden drei Wochen nach der Impfung getötet. Die Züchtung erfolgt aus den Tuberkelnöthen der Milz oder den erkrankten Drüsen, die mit sterilen Instrumenten soweit als möglich zerkleinert werden. Dann wird das Gewebe nach Hinzufügen von 1 cm³ 6%iger Schwefelsäure mit einem Glattstab zerquetscht, bis ein feiner Brei entsteht. Nun werden weitere 8 cm³ Schwefelsäure zugegeben, nach 10 Minuten langer Einwirkung (öfters schütteln) wird auf Diernährboden verimpft.

Differentialdiagnose. Im Sputum ist das Vorkommen von säurefesten Stäbchen, die keine Tuberkelbacillen sind, so selten, daß dadurch die Bedeutung des gefärbten Präparates für die Diagnose nicht beeinträchtigt wird. Es ist beobachtet bei Ozaena sowie in Fällen von Lungengangrän, Bronchiektasie und putrider Bronchitis. Bei diesen Krankheitszuständen ist daher Vorsicht in der Diagnose geboten. Diese säurefesten Stäbchen können sich zwar in ihrer Form von den Tuberkelbacillen unterscheiden, sie sind meist schlanker, starrer, gerader als die Tuberkelbacillen und an den Enden leicht zugespitzt, jedoch sind diese Differenzen bei dem wechselnden Aussehen des Tuberkelbacillus darbietend zu gering, um daraus eine sichere Diagnose zu gestatten. Auch die leichtere Entfärbbarkeit durch Alkohol ist kein konstantes Merkmal der übrigen säurefesten Stäbchen gegenüber den Tuberkelbacillen. Kulturell unterscheiden sie sich von den Tuberkel-

bacillen durch ihre Fähigkeit sich schneller auch bei Zimmer-temperatur auf künstlichen Nährböden zu entwickeln. Nach 24 bis 48stündigem Wachstum auf Glycerinagar haben sich stecknadelkopfgroße weißlich glänzende Kolonien gebildet die allmählich zu einem weißen sahn- förmigen Belag konfluieren. Bei weiterem Wachstum ver- schwindet der Glanz die Oberfläche sieht trocken aus. Bei Zimmertemperatur entwickelt sich dann allmählich ein orangegelber Farbstoff. Die schließliche und sicherste Ent- scheidung liefert der Tierversuch da die anderen säure- festen Stäbchen niemals das typische Krankheitsbild der Tuberkulose hervorrufen. Zusammen mit Butter intra- peritoneal injiziert erzeugen sie zwar bei Meerschweinchen neben einer schwartigen Peritonitis Veränderungen die makroskopisch den Tuberkelknötchen gleichen sich aber bei der histologischen Untersuchung wesentlich von ihnen unterscheiden da sie einen mehr exsudativen als proli- ferierenden Charakter zeigen und ferner die *Langhansschen* Riesenzellen sowie Epitheloidzellnester vermissen lassen. Schließlich finden sich in ihnen im Gegensatz zu den echten Tuberkelknötchen gewöhnlich zahlreiche säurefeste Stäbchen.

Pneumokokken (Tafel IV, Fig. 1 und 2)

Die Pneumokokken finden sich im Sputum vor allem bei der croupösen Pneumonie, ferner bei lobulärer Pneumonie und Bronchitis und als mischinfizierende Bakterien bei Tuberkulose. Vielfach sind Pneumo- kokkeninfektionen der Luftwege beobachtet, die sporadisch und epidemisch auftreten und influenzaähnliche Erscheinungen aufweisen.

Mikroskopische Untersuchung. Die Pneumokokken präsentieren sich als länglich ovale Diplo- kokken die meist nach ihrer freien seltener nach der einander zugekehrten Seite hin spitz ausgezogen sind, während der andere Pol abgerundet erscheint (lancett- förmig oder herzenflammenähnlich). Sie besitzen eine deut- liche Kapselfarbe, färben sich leicht mit verdünnten Anilinfar- stoffen und sind grampositiv. Häufig bilden sie kurze Ketten von vier bis sechs Gliedern die von einer gemeinsamen

Kapsel umgeben sind. Die Kapsel ist in der Regel schon in dem mit verdünntem Carbofuchsin gefärbten Präparat als heller Hof sichtbar. Sie wird noch deutlicher wenn man das Präparat nach *Raebiger* oder *Johns* färbt (vgl. Kapitel XII Färbemethoden) ferner nach Färbung mit *Ziehl*scher Lösung kurzer Differenzierung in stark verdünnter Essigsäure und Nachfärbung mit verdünnter Methylenblaulösung und in Tuschepräparaten die mit Carbofuchsin nachgefärbt werden. Meist bieten sie im gefärbten Präparate ein so charakteristisches Bild dar daß schon mikroskopisch die Diagnose Pneumokokken gestellt werden kann. In anderen Fällen müssen zu ihrer Identifizierung Züchtung und Tierversuch herangezogen werden.

Züchtung Die Pneumokokken sind fakultativ anaerob und gedeihen am besten bei 37°. Aber auch bei 25° zeigen sie gutes Wachstum. Als Nährboden dienen Löfflerserum, Serum oder Ascitesagar (1:3), Blut, Glycerin-, Levinthalagar. Die Reaktion des Nährbodens muß einer p_H Konzentration von 7.6 bis 7.8 entsprechen. Auf Ascites- oder Serumagar entwickeln sich die Pneumokokken zu kleinen, taupfropfenähnlichen Kolonien, die bei mikroskopischer Untersuchung ein dunkleres gekörntes Zentrum und einen helleren glatten Rand aufweisen. In Serum und Ascitesbouillon (1:3) wachsen sie häufig in Ketten unter geringer Trübung der Bouillon und bilden ein feinkrümeliges weißliches Sediment. Milch bringen sie zur Gerinnung. Auf der *Schottmüllerschen* Blutagarplatte (2 Teile menschliches Blut + 5 Teile Agar) rufen sie keine Hämolyse hervor und entwickeln sich zu flachen, ziemlich üppigen schwärzlichen Kolonien mit olivgrüner Verfärbung des Nährbodens. Die Kapsel fehlt in der Regel bei Züchtung auf künstlichen Nährböden. Rindergalle wirkt auf Pneumokokken bakteriolysisch. Zusatz von Optochin in einer Konzentration von 1:500 000—1:1 000 000 hemmt ihre Entwicklung auf dem Nährboden.

Prüfung mittels Rindergalle. 2 cm³ der zu untersuchenden Bouillonkultur werden mit 0.1 cm³ Rindergalle versetzt. Handelt

es sich um Pneumokokken, so tritt nach wenigen Minuten eine Aufhellung der vorher trüben Mischung ein. Die Kokken werden aufgelöst und sind mikroskopisch nicht mehr nachweisbar. Die Probe kann auch in folgender Form angestellt werden. Zu 1 cm³ 10%iger frischer bereiteter Lösung von taurocholsaurem Natrium (*Mack*) in physiologischer Kochsalzlösung fügt man einen Tropfen einer gut bewachsenen Bouillonkultur (möglichst viel Sediment) oder eine Öse des Kulturrasens hinzu. Nach zwölfstündiger Bebrütung bis 37° sind die Pneumokokken aufgelöst. Häufig gelingt es bei Untersuchung im hängenden Tropfen schon nach 10 Minuten langer Einwirkung bei Zimmertemperatur, die Auflösung der Pneumokokken festzustellen.

Zur Prüfung auf Optochinempfindlichkeit dient Optochinblutagar (100 cm³ schwach alkalischer Agar vermischt mit 1 cm³ 0.1%iger wässriger Optochinlösung und 5 cm³ Blut), ferner Ascitesbouillon mit Zusatz von 1 : 500.000 bis 1 : 1.000.000 Optochin. Zu 2 cm³ der Ascites-Optochin Bouillon wird 1 Tropfen einer 24stündigen Ascites-Bouillonkultur zugesetzt. Die Pneumokokken kommen auf diesem Nährboden nicht zur Entwicklung.

Tierversuch. Die Pneumokokken sind pathogen für Kaninchen und weiße Mäuse. Man injiziert von einer gewaschenen in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Sputumflocke einer Maus zirka 0.1 einem Kaninchen 0.5 bis 1.0 cm³ subcutan oder intraperitoneal. Die Tiere gehen nach 24 bis 48 Stunden an Pneumokokkämie zugrunde. Im Herzblut und den Organen sind zahlreiche von einer Kapsel umschlossene Diplokokken von der charakteristischen Form der Pneumokokken nachweisbar. Mit Hilfe des Tierversuches gelingt auch der Nachweis der Pneumokokken bei negativem mikroskopischem Befunde und ihre Isolierung aus dem Sputum am leichtesten.

Auf Grund der Immunitätsreaktionen unterscheidet man vier Typen von Pneumokokken. Die zu den Typen I bis III gehörenden Stämme werden nur von Immunsera, die mit Angehörigen des gleichen Typus hergestellt sind, agglutiniert und im Schutzversuch an Mäusen beeinflusst. Gruppe IV oder X ist nicht einheitlich, sie umfaßt die Stämme, die durch Immunsera der ersten drei Typen nicht beeinflusst werden. Typus III entspricht dem *Streptococcus mucosus*.

Bei den primären Pneumokokkeninfektionen (cruppöse Pneumonie, Peritonitis, Meningitis und Otitis media acuta) werden am häufigsten Typus I, II und III gefunden; bei sekundären Infektionen (lobuläre Pneumonie, Bronchitiden, sekundäre Meningitis, Ulcus corneae serpenti, Conjunctivitis) überwiegend Keime des Typus X.

Der Typus des Pneumokokkus wird in der Reinkultur durch quantitative Agglutination bestimmt. Zur serologischen Diagnose der Typen I, II und IV verwendet man Bouillonkulturen. Die Kulturen werden zentrifugiert, das Kokkensediment wird mit Kochsalzlösung ausgewaschen und dann in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zur Feststellung des

Typus III und wegen des schleimigen Wachstums Kulturen auf festem Nährboden geeigneter.

Sicherere Resultate liefert die makroskopische Agglutinationsprobe. Eine gut gewaschene Sputumflocke wird einer Maus intraperitoneal injiziert. Die Bauchhöhle der infizierten Maus wird sechs bis acht Stunden nach der Infektion mit zirka 5 cm³ Kochsalzlösung ausgespült. Die Waschflüssigkeit wird zur Entfernung der zelligen Elemente zunächst kurz zentrifugiert, dann wird die überstehende Flüssigkeit abgegossen und nochmals stark zentrifugiert. Das so gewonnene Kokkensediment wird in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zur Anstellung der Probe zu gleichen Teilen mit dem agglutinierenden Serum versetzt. Serum I und II werden 1:20, Serum III 1:5 verdünnt verwendet. Die Untersuchung mittels Agglutinoskop erfolgt nach einstündiger Bebrütung bei 37°.

Zur Schnellidiagnose des Pneumokokkentypus wird folgendes Verfahren empfohlen. Eine an Pneumokokken reiche Sputumflocke wird sorgfältig mit Kochsalzlösung verrieben. Je eine Öse dieser Aufschwemmung wird mit der gleichen Menge unverdünnten I, II und III Serums unter Zusatz einer Öse von 1:5 verdünnten *Löffler'schen* Methylengblau versetzt. Nach etwa 5 Minuten wird untersucht. Die unter Einwirkung des homologen Serums gequollenen Kapseln umgeben als glänzende, un- gefärbte Hülle die intensiv gelarbt, nicht vergrößerten Kokken.

Differentialdiagnose gegenüber Streptokokken vgl. auch S. 349.

Bei beginnender Pneumonie ist häufig kein Auswurf vorhanden. Man kann dann zur Gewinnung des Erregers die Hustenplatte benut- zen. Als Nährboden dient Blutagar (vgl. S. 49).

Streptokokken

Die Streptokokken finden sich im Sputum bei lokaler Pneumonie, Bronchitis, Lungenabszeß und als muskulinisierende Bakterien bei Tuberkulose.

Mikroskopische Untersuchung. Die Streptokokken bilden mehr oder weniger lange Ketten, deren einzelne Glieder meist kugelige Gestalt besitzen, doch zeigen die einzelnen Kokken an den Berührungsstellen häufig auch leichte Abplattung. Oft finden sie sich im Sputum in Diploform und erweisen sich dann erst durch das Kulturverfahren als Streptokokken. Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und sind grampositiv.

Zucht. Die Streptokokken gedeihen am besten bei 30 bis 37° unter aeroben Bedingungen. Auf Agar wachsen sie sehr langsam, besser auf Trauben- zuckeragar und Nährböden mit Zusatz von Serum oder Ascitesflüssigkeit im Verhältnis 1:3 sowie auf Blutagar. Der Nährboden soll deutlich alkalisch sein.

(0.1 g kristallinischer Soda auf 100 cm³ des lackmus-neutralen Nährbodens) Zur Herstellung des Nährbodens ist Peptou Chapotaut besonders geeignet. Die Streptokokken bilden sehr kleine zarte durchsichtige Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung erscheint das Zentrum fein granuliert und dunkler als der Rand der entweder glatt ist oder sich in Schlingen auflöst. In Präparaten die von festen Nährböden stammen wird die Kettenbildung häufig vermißt. In Bouillon bilden die Streptokokken meist einen flockigen Niederschlag ohne sie zu trüben und entwickeln sich dann zu langen Ketten in selteneren Fällen trüben sie die Bouillon diffus unter Bildung kurzer Ketten. In Ascitesbouillon bilden einzelne Streptokokkenstämme große Schleimflocken die mikroskopisch aus Riesenketten bestehen die das ganze Gesichtsfeld durchziehen (*Streptococcus longissimus*). Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Über die Arterteilung der Streptokokken und die Differentialdiagnose gegenüber anderen Kokken siehe Seite 380.

Staphylokokken

Die Staphylokokken werden im Sputum bei Bronchitis, Lungenabsceß und als mischinfizierende Bakterien bei lobulärer Pneumonie und Tuberkulose gefunden.

Im Sputum finden sich gewöhnlich *St. aureus* oder *albus* seltener *St. citreus*.

Mikroskopische Untersuchung. Die Staphylokokken färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und entfärben sich nicht nach Gram. Sie zeigen sich im gefärbten Präparat meist als runde traubenförmig angeordnete Kokken. Häufig liegen sie in großen Haufen innerhalb der Zellen doch finden sich auch einzelliegende Kokken und Diplokokken mitunter sogar Ketten von zwei bis drei Gliedern.

Züchtung. Sie sind fakultativ anaerob und wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden sehr üppig. Auf Agar bilden sie große runde undurchsichtige flache

habene Kolonien von gelber (St. aureus) weißer (St. albus) oder citronengelber (St. citreus) Farbe. Alle echten Staphylokokken verflüssigen die Gelatine. Bouillon wird gleich mäßig getrübt Traubenzucker nicht vergärt. Der Tierversuch braucht zur Diagnose nicht herangezogen zu werden (Über Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Staphylokokken vgl. S. 38ⁿ)

Micrococcus tetragenus

Micrococcus tetragenus findet sich im Sputum als selbständiger Entzündungserreger und als Mischinfektionserreger bei Tuberkulose

Mikroskopische Untersuchung Er besteht aus rundlichen bis ovalen Kokken von wechselnder Größe die in Tetraden zusammenliegend von einer Kapsel umschlossen werden. Nach der Gramschen Methode verhält er sich positiv

Züchtung Auf Agar bildet er weiße, undurchsichtige feucht glänzende Kolonien die bei schwacher Vergrößerung betrachtet am Rande die Form der Tetraden erkennen lassen Auf der Gelatineplatte zeigen sich zuerst kleine weiße Punkte die bald an Umfang zunehmen und die Gelatine mit einem kappenförmigen glänzenden porzellanartigen Belag überziehen. Die Bouillon bleibt klar unter Bildung eines mäßigen Bodensatzes

Tierversuch Besonders empfänglich sind weiße Mäuse die einige Tage nach der Infektion an Bakteriämie zugrunde gehen

Micrococcus catarrhalis (Tafel V Fig. 1)

Micrococcus catarrhalis findet sich im Sputum als Erreger von Bronchitiden und Bronchopneumonien allein oder zusammen mit anderen Entzündungserregern, besonders Streptokokken und Influenzabacillen

Mikroskopische Untersuchung Der **Micrococcus catarrhalis** ist ein Diplokokkus Die Diplokokken liegen einzeln oder in losen Haufen niemals in

Ketten Er hat in Form und Lagerung große Ähnlichkeit mit dem Gonokokkus und Meningokokkus. Im akuten Stadium liegt er häufig extracellulär, später vielfach innerhalb der Leukocyten in dichten Haufen um den Kern herum. Wie der Gonokokkus und Meningokokkus entfärbt er sich nach Gram.

Zucht Er gedeiht auf neutralem und schwach alkalischem Agar, üppiger auf Blutagar und Ascitesagar. Die Kolonien erscheinen nach 24stündigem Wachstum grauweiß, lackartig glänzend und flach erhaben. Sie sind von mörtelartiger Konsistenz und verschieben sich beim Abstreichen häufig in toto auf dem Nährboden. Bei schwacher Vergrößerung betrachtet zeigen sie gelbbraune Farbe, ungleichmäßige Körnung und einen stark unregelmäßigen, wie angefressen aussehenden Rand. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Bouillon bildet der *Micrococcus catarrhalis* einen Niederschlag, ohne sie zu trüben. Nach einigen Tagen entsteht an der Oberfläche eine Kahlhaut. (Differentialdiagnose gegenüber den anderen gramnegativen Diplokokken vgl. Seite 16.)

Influenzabacillus

Mikroskopische Untersuchung Die Influenzabacillen sind sehr kleine, unbewegliche, ovoide Stäbchen, die oft in Diploform liegen und dann leicht mit Diplokokken verwechselt werden können (Typus I). Nicht selten findet man daneben längere Stäbchen, mitunter auch Scheinfäden (Typus II). Durch groteske Vielgestaltigkeit zeichnet sich Typus III aus. Neben kokkoformen Stäbchen findet man Keulen, Kugeln, Schleifen, dicke Fäden. Typus IV bringt deutliche Hämolyse auf der Blutplatte hervor. Die Influenzabacillen färben sich etwas schwerer als die anderen Bakterien und sind gramnegativ. In Sputumpräparaten finden sie sich häufig intracellulär. Gewöhnlich sind sie darin in sehr großer Menge nachweisbar, so daß das Präparat aussieht, als wenn es mit ihnen beschüttet wäre.

Züchtung Die Influenzabacillen sind streng aerob. Auf gewöhnlichem Agar kommen sie nicht zur Entwicklung. Sie wachsen nur auf Hämoglobin enthaltenden Nährböden (hämoglobinophile Bakterien). Optimum der Reaktion ist pH 7,2 bis 7,5. Auf Blutagar der aber erst 24 Stunden nach Herstellung verwendet werden darf, weil sonst Wachstum ausbleibt, bilden sie glashelle taupfropfenähnliche Kolonien, die keine Neigung zu konfluieren haben. Stehen sie dicht gedrängt, so fließen sie zu größeren Tröpfchen zusammen, jedoch sind auch dann die einzelnen Kolonien immer noch zu unterscheiden. In der nächsten Umgebung von Staphylokokkenkolonien entstehen auffallend große sogenannte Riesenzolonien. In Blutbouillon, die den Boden des Erlenmeyerkolbens nur 0,5 bis 1 cm hoch bedecken darf, bilden sie zarte weiße Flöckchen. Auf der Blutplatte ruft nur Typus IV Hämolyse hervor. Besonders gute Wachstumsbedingungen bieten ihnen der Levinthalagar und Levinthalbouillon (vgl. Kap. XII). Auf diesem Nährboden entwickeln sie sich zu glasklaren üppigen Kolonien, die von den Begleitbakterien schon makroskopisch gut unterscheidbar sind. Eine Verwechslung kann nur mit den ähnlich, nur etwas opaker wachsenden Meningokokken unterlaufen.

Bei Zuchtungsversuchen aus dem Sputum wird neben Blutagar zur Kontrolle auch gewöhnlicher Agar mit der gut gewaschenen Sputumflocke beschickt. Handelt es sich um Influenzabacillen, so muß auf Agar das Wachstum ausbleiben, während auf Blutagar die beschriebenen Kolonien zur Entwicklung kommen.

Zum kulturellen Nachweis der Influenzabacillen im Sputum dient auch die sogenannte „Hustepplatte“. Man läßt den Kranken gegen eine Platte mit Levinthalagar, die ihm in zirka 10 cm Abstand vor den Mund gehalten wird, husten. Das Sputum wird dabei fein versprüht und liefert auf der Platte isolierte Kolonien.

Bei negativem Ausfall der mikroskopischen Untersuchung kann der Nachweis der Influenzabacillen noch durch den Tierversuch gebogen.

Eine gut gewaschene, in Kochsalzlösung aufgeschwemmte Sputumflocke wird einer Maus intraperitoneal injiziert. Das Tier geht innerhalb 24 bis 36 Stunden zugrunde. Aus dem Herablut gelingt es, die Influenzabacillen zu züchten.

Durch Immunisierung von Kanarienvögeln mit lebenden Kulturen gelingt es, agglutinierende Sera für Influenzabacillen zu erzeugen. Die Influenzabacillen sind serologisch nicht einheitlich. Der Versuch muß daher mit polyvalentem Serum angestellt werden. Die Agglutination wird nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° mit der Larpe abgelesen. Die Ausföhrung der Probe wird durch die Neigung der Influenzabacillen, spontan in Kochsalzlösung auszuflocken erschwert; um das zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Kultur in 0·4 %iger Kochsalzlösung aufzuschwemmen und 1 Stunde zu schütteln.

Keuchhustenbacillen

Als Erreger des Keuchhustens sind mit Wahrscheinlichkeit die von *Bordet* und *Gengou* gefundenen Bacillen zu betrachten, die sich im Sputum während des katarrhalischen Stadiums und in der ersten Woche des spasmodischen Stadiums der Erkrankung regelmäßig in sehr großen Mengen, fast in Reinkultur nachweisen lassen. Später treten andere Bakterien in den Vordergrund.

Mikroskopische Untersuchung Die Keuchhustenbacillen sind kleine unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden und sind etwas plumper als die Influenzabacillen. Sie bilden keine Sporen, entfärben sich nach *Gram* und färben sich häufig bipolar. Die Polfärbung kann mit Carboltoluidinblau (vgl. Kapitel XII) zur Darstellung gebracht werden. Dieser Farbstoff färbt den Keuchhustenbacillus lilä, die anderen Bakterien blau. Bei Vitalfärbung mit 0·0001 %iger Nilblausulfatlösung bleiben Influenzabacillen ungefärbt, während Keuchhustenbacillen sich färben und deutliche Polkörner zeigen.

Züchtung Der Keuchhustenbacillus wurde von *Bordet* und *Gengou* zuerst auf Kartoffelglycerinblutagar gezüchtet. An Stelle dieses Nährbodens kann auch 1 bis 3 % Glycerinagar benutzt werden, der im Verhältnis 2 : 1 mit Blut gemischt wird. Die Bazillen wachsen meist recht langsam und spärlich, die Kolonien werden erst am zweiten Tage makroskopisch sichtbar. Sie sind rund, erhaben, glänzend grau bis weiß gefärbt. Die Fortzüchtung gelingt auch auf hämoglobinfreien Nährböden, die Ascitesflüssigkeit

oder Serum enthalten. Auf schrägem 10%igen Glycerin-ascitesagar bilden sie einen glänzenden opaleszierenden Belag von grauer Farbe. Auf Blutagar rufen sie Hämolyse geringen Grades hervor. Auf Levinthalagar kommen sie nicht zur Entwicklung.

Die Keuchhustenbacillen sind bei Anwendung großer Kulturmengen für Meerschweinchen, Kaninchen und weiße Mäuse pathogen.

Von Influenzabacillen unterscheiden sie sich mikroskopisch durch die Gleichmäßigkeit ihrer Form, das Fehlen der langen Stäbchen und Scheinfäden und die häufig feststellbare Polfärbung; kulturell durch das Wachstum auf Serum und Ascitesagar sowie die Fähigkeit zur Hämolyse auf Blutagar; serodiagnostisch durch die Komplementbindungsreaktion. Keuchhustenbacillen reagieren bei Komplementbindungsversuchen mit dem Serum von Keuchhustenpatienten und rekonvaleszenten Influenzabacillen nicht. Intracutane Injektion lebender Keuchhustenbacillen (0.1 cm^3 einer Aufschwemmung von 5 Milliarden Keimen) ruft auf der Rückenhaut von Albinos (Kaninchen) nach 24 Stunden schwere Nekrosen hervor. Injektion von Influenzabacillen nur wechselnd starke Infiltration und Erythembildung.

Diplobacillus Friedländer (Pneumobacillus)

(Tafel V, Fig. 2)

Der *Diplobacillus Friedländer* findet sich im Sputum bei lobulären Pneumonien, aber auch bei croupösen Pneumonien zusammen mit Pneumokokken, bei Bronchitis und als Mischinfektionserreger bei Tuberkulose.

Mikroskopische Untersuchung. Die Pneumobacillen sind gramnegative, plumpe, unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden von außerordentlicher Variabilität in Größe und Gestalt, oft kokkenähnlich. Sie liegen in Diploform, bilden mitunter kurze Ketten und besitzen meist eine deutliche Kapsel, die besonders in Krankheitsprodukten sichtbar ist.

Züchtung Die Diplobazillen wachsen bei Zimmer und Bruttemperatur üppig auf den gewöhnlichen Nährböden und bilden entweder granweiße feuchtglänzende, schleimige oder mehr feste undurchsichtige Kolonien. Gelatine wird nicht verflüssigt und wird häufig nach längerem Stehen braun gefärbt. Bouillon wird mehr oder weniger stark getrübt unter Bildung eines schleimigen Bodensatzes. Traubenzucker wird vergoren. Milch nicht zur Gerinnung gebracht. Indol nicht gebildet. Differentialdiagnose gegenüber *Bac. lactis aerogenes* und *Bac. Coll* vgl. Seite 262.

Tierversuch Nach subcutaner oder intraperitonealer Injektion gehen weiße Mäuse innerhalb 24 bis 48 Stunden zugrunde. Im Blut und in den Organen sind zahlreiche Diplobacillen mit Kapsel nachweisbar.

Bacillus pyocyaneus.

Als Maschininfektionserreger bei Tuberkulose ist auch *Bacillus pyocyaneus* beschrieben worden. Das Sputum wird durch seine Pigmente blau bis blaugrün gefärbt und besitzt einen eigentümlich aromatischen Geruch.

Mikroskopische Untersuchung: Die *Pyocyaneobacillen* sind kleine, schlanke, bewegliche gramnegative Stäbchen.

Züchtung Der *Bacillus pyocyaneus* wächst gut auf den gebräuchlichen Nährböden, auf denen er auch den blauen bis blaugrünen Farbstoff bildet, der sich dem ganzen Nährboden mitteilt. Auf Agar entwickeln sich rundliche glattrandige Kolonien, auf Gelatine erscheinen sie flach unregelmäßig begrenzt und sind bald mit einem Verflüssigungshof umgeben. Bouillon wird stark getrübt, die Milch koaguliert und peptonisiert.

Tierversuch ist für diagnostische Zwecke entbehrlich.

Pestbacillen (Tafel VI, Fig. 1)

Pestbacillen finden sich im Auswurf bei primärer Lungenpest, bei Pneumonie und terminalem Lungenödem schwerer Pestsepticämien.

Mikroskopische Untersuchung Die Pestbacillen sind im Sputum in Reinkultur oder sehr häufig auch zusammen mit anderen Bakterien, namentlich Diplokokken und Streptokokken nachweisbar. Die Präparate werden am besten nach *Schreibler* mit absolutem Alkohol fixiert, den man auf das Deckglas tropft, zirka eine Minute einwirken läßt, dann anzundet und schnell auslöscht. Die Färbung wird mit verdünntem Boraxmethylblau vorgenommen. Die Pestbacillen stellen kurze, ovale

Stäbchen, die sich an den Polen intensiver als in der Mitte färben (Kollarfärbung). Ihre Form ist jedoch sehr wechselnd, es finden sich neben den typischen Stäbchen kugrovale (Kollertypus) sowie lange Stäbchen (Stäbchentypus) ferner sehr häufig Involutionformen in Gestalt unregelmäßig begrenzter Bläschen oder scheibenförmiger oft befehlensähnlicher Gebilde, welche sich schlecht färben. Nach der Gramschen Methode verhalten sich Leptothorax negativ.

Züchtung: Die Reaktion des Nährbodens muß neutral oder schwach alkalisch sein. Kulturen auf Agar werden bei 30° C Gelatinekulturen bei 20 bis 22° gehalten. Letztere sind besonders geeignet für Untersuchungen des Sputums und anderer Sekrete, welche neben den Pestbakterien noch andere Bakterien enthalten, da bei 22° die Leptothorax sich noch gut entwickeln, während die anderen Bakterien zurückbleiben. Gelatineplatten werden in derselben Weise benutzt wie sonst Agarplatten, indem das Untersuchungsmaterial auf der Oberfläche der erstarrten Gelatine in dünner Schicht ausgebreitet wird. Auf der Agarplatte sind nach zäusündigem Wachstum kleine taupförmig ähnliche Kolonien sichtbar, nach 48 Stunden erscheinen die Kolonien durch Licht mit prominentem dunkelgelbem gekerntem Zentrum und breitem, zartem gezacktem Rand. Auf trockenem 2 bis 4 Prozent Natriumchlorid enthaltendem Nährboden bilden die Leptothorax die charakteristischen Involutionformen. Auf Gelatine, die nicht verflüssigt wird, entwickeln sich in zwei bis drei Tagen gelbbraune Kolonien, deren groß granuliertes Zentrum die Gelatineoberfläche überragt und von einem zarten, glasigen, am Rande ausgetrockneten Saum umgeben ist.

Charakteristika: ist die Stäbchenabildung in ruhig stehenden Bouillonkulturen.

Tierversuch: Die geeignetsten Versuchstiere sind Ratten und Meerschweinchen. Bei den Ratten wird die Injektion subcutan auf die unversehrte Haut oberhalb der Brustverletzung vorgenommen. Meerschweinchen subcutan durch den Rücken des Halses. In der ersten Reihe ist besonders die letztere Methode gut bei der Sputumuntersuchung gute Resultate. Nach wenigen Tagen entsteht eine starke Schwellung der regionalen Lymphknoten und in weiteren 7 Tagen tritt der Tod der Versuchstiere ein. Aus den Kolonien kann sich nach 24 bis 48 Stunden ein gutes Infektionsmaterial zur Aussaat gewonnen werden. Die Identifizierung der gezielten Bakterien geschieht durch eine Agglutinationstabelle.

Streptothricen.

Streptothricosen der Lunge: können zu einer unter dem Bild einer Pneumonie auftretenden nekrotisierenden Verlaufsform führen. Es ist zur Diagnose eine Lunge, die nachweislich von Streptothricen infiziert ist, notwendig. Die Infektion erfolgt durch die Injektion von Streptothricen in die Lunge. Die Infektion erfolgt durch die Injektion von Streptothricen in die Lunge. Die Infektion erfolgt durch die Injektion von Streptothricen in die Lunge.

Am leichtesten gelingt der Nachweis dieser Mikroorganismen im Grampräparat. Hier erscheinen sie als kausale, wellig gebogene Fäden mit echten Verzweigungen teils einzeln liegend, teils kleinere und größere Geflecht bilden. Die Verzweigungen erfolgen gewöhnlich in spärlichen

bis rechten Winkeln wobei Ästchen und Stammfäden die gleiche Dicke behalten. Der zu den Streptotricheen gehörende *Actinomyces* ist charakterisiert durch kolbige Verdickungen an den Enden der Fäden die den anderen Gliedern dieser Gruppe fehlen. Neben den langen Fäden sieht man feine schlanke Stäbchen und Kokken teils in Haufen teils in Kettenform. Die meisten Fäden sind gram

Fig. 7



Streptotricheen

positiv es finden sich aber auch in grampositive und -negative Abschnitte segmentierte, auch völlig entfärbte Fäden kommen vor. Das Protoplasma zeigt oft eine feinkörnige Struktur ähnlich der granulierten Form des Tuberkel bacillus. Meist finden sich im Sputum weißgelbliche etwa stecknadelkopfgroße leicht zerdrückbare Körnchen die aus einem dichten Fadennetz bestehen. Die den *Actinomyces* charakterisierenden Drusen (cf S. 29) fehlen (Tafel XXII Fig. 2.)

Die Streptotricheen wachsen teils aerob teils anaerob. Die meisten pathogenen Arten entwickeln sich nur unter anaeroben Bedingungen. Ihr Wachstum ist ein

- 1 Freie Salzsäure
- 2 gebundene Salzsäure
- 3 saure Phosphate
- 4 Spuren organischer Säuren (Kohlensäure Milchsäure, Essigsäure Buttersäure usw.)

Freie Salzsäure. Unter „freier Salzsäure“ versteht man den Überschuß der Salzsäure nach erfolgter Bindung eines Teiles durch Eiweißprodukte wie ist praktisch identisch mit der wahren Acidität, d. h. der H Ionenkonzentration. Nach *Muckas* beträgt der pH des normalen Mageninhaltes 1,8.

Als „gebundene Salzsäure“ bezeichnet man die sauer reagierende lockere Verbindung von Eiweißkörpern und deren Abbauprodukten mit Salzsäure.

Zum Nachweis der freien Salzsäure werden in der Praxis folgende zwei Proben angewandt:

1 **Probe mit Kongopapier.** Das rote Kongopapier wird durch Eintauchen in den freien Salzsäure enthaltenden Mageninhalt deutlich blau gefärbt. Schwache Blaufärbung kann auch durch Milchsäure hervorgerufen werden.

2 **Die Günsburgsche Reaktion mit Phloroglucin-vanillin.**

Das Reagens besteht aus

Phloroglucin	2,0
Vanillin	1,0
Alkohol absol.	30,0

Man bringt drei Tropfen des Reagens und ebenso viele des filtrierten Mageninhaltes in ein Porzellanschälchen und mischt innig durch. Dann wird die Flüssigkeit vorsichtig über einer kleinen Flamme erwärmt (ohne den Siedepunkt zu erreichen) bis alles verdampft ist. Es bildet sich besonders am Rande ein schön karmoisinroter Spiegel. Der Spiegel entsteht noch bei einer Verdünnung von 0,01% HCl. Diese Reaktion wird als die empfindlichste und zuverlässigste Reaktion zum Nachweis freier Salzsäure allgemein anerkannt.

Es ist zu bemerken, daß das Günsburgsche Reagens sich bei längerem Aufbewahren leicht zersetzt; es empfiehlt

sich daher alkoholische Lösungen von Phloroglucin und Vanillin getrennt aufzubewahren und erst vor der Ausführung der Reaktion die nötigen Mengen zu mischen (Phloroglucin 40 auf 200 Alkohol Vanillin 20 auf 300 Alkohol je ein bis zwei Tropfen für eine Probe)

Milchsaure $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ist eine der Arten der Milchsäuren (Lactone) und kommt bei Laktation (Milchbildung) vor. Sie tritt in Betracht, weil sie sich als Produkt der Gärung von Kohlenhydraten unter der Einwirkung von Mikroorganismen bilden kann.

Sie wird durch folgende Reaktion nachgewiesen:

15 bis 20 cm³ Wasser versetzt man mit drei bis fünf Tropfen Liqueur ferrici chlorati. Das Wasser färbt sich kaum merkbar gelb. Man verteilt das so hergestellte Reagens auf zwei Reagenzgläser und setzt zu einem derselben tropfenweise den zu untersuchenden filtrierten Mageninhalt zu. Bei Anwesenheit von Milchsäure färbt sich die Flüssigkeit zeisiggelb. Die Veränderung der Farbe tritt deutlich hervor beim Vergleich beider Reagenzgläser auf weißem Hintergrund.

Flüchtige Fettsäuren Von den flüchtigen Fettsäuren können bei der Mageninhaltuntersuchung hauptsächlich Essigsäure und Buttersäure in Betracht kommen. Sie werden entweder mit der Nahrung eingeatmet oder als Produkt der Gärung von Kohlenhydraten gebildet. Sie sind im letzteren Falle von großer diagnostischer Bedeutung.

Zur qualitativen Orientierung über die Anwesenheit von flüchtigen Fettsäuren kann man sich der folgenden einfachen und für praktische Zwecke genügenden Probe bedienen. Man erwärmt zirka 10 cm³ des zu untersuchenden Mageninhalt mit einem Reagenzglas, an dessen Ende sich ein kleiner Tropfen leuchtendes, blaues Lackmuspapier befindet. Sind flüchtige Säuren vorhanden, so färbt sich das Lackmuspapier rot (Lea).

Ein genauer Nachweis geschieht auf folgenden Wege: 15 bis 20 cm³ Mageninhalt werden mit 1 g Natriumsulfat ersetzt und zwei bis dreimal mit je 50 cm³ Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird abgetrennt und durch Destillieren verjagt; es hinterbleibt ein flüssiger Rückstand, welcher bei Anwesenheit von organischen Säuren deutlich sauer reagiert und einen charakteristischen Geruch besitzt. Dieser Rückstand wird in zwei gleiche Portionen geteilt, mit welchen je spezielle Reaktionen auf Essigsäure und Buttersäure auszuföhrt werden.

a) Nachweis der Essigsäure. Die Flüssigkeit wird mit Wasser aufgenommen, mit einer verdünnten Sodaaugen genau neutralisiert und mit einem Tropfen Zinnchlorid versetzt. Bei Anwesenheit von Essigsäure färbt sich die Flüssigkeit blutrot und gibt beim Kochen einen braunroten Niederschlag von basisch-essigsaurem Eisenoxyd.

b) Zum Nachweis der Buttersäure wird die zweite Portion des Ätherrückstandes in zwei bis drei Tropfen Wasser gelöst und mit einem ganz kleinen Stückchen Chlorcalcium versetzt. Die Buttersäure scheidet sich dabei (infolge ihrer Unlöslichkeit in Salzlösungen) in kleinen auf der Oberfläche schwimmenden Tropfen ab die den spezifischen Geruch der Buttersäure erkennen lassen

Pepsin und Pepsinogen Das eiweißverdauende Ferment des Magensaftes Pepsin entsteht aus dem Pepsinogen, dem spezifischen Produkte der Hauptzellen der Magendrösen durch die Einwirkung von Säuren. Besonders schnell geschieht die Umwandlung des Pepsinogens in aktives Pepsin durch die Einwirkung der Salzsäure

Auf dieser Tatsache beruht der Nachweis des Pepsins und seiner Vorstufe im Mageninhalt. Wenn ein Mageninhalt freie Säuren enthält und gleichzeitig Eiweißstoffe verdaut, so ist damit der Beweis des Vorhandenseins von Pepsin geliefert. Enthält der Magensaft keine freie Säure, so kann in diesem Falle nur Pepsinogen vorhanden sein. Ein derartiger Mageninhalt muß eiweißverdauende Eigenschaften nach Zusatz genügender Menge Salzsäure erhalten. Ist es nicht der Fall, so ist auch Pepsinogen nicht vorhanden.

Qualitativer Nachweis. In zwei Reagensgläser bringt man zu je 5 cm³ Magensaft ein kleines Stückchen getrockneten Fibrins oder Hühnereiweiß. In ein Reagensglas bringt man außerdem zwei bis drei Tropfen 3%ige Salzsäure und stellt beide Reagensgläser in den Brutschrank. Ist nach sechs bis zehn Stunden in beiden Röhrchen das Eiweiß ungelöst geblieben, so fehlt Pepsinogen. Ist das Eiweiß nur in dem mit Salzsäure versetzten Röhrchen gelöst, so ist Pepsinogen da, aber keine freie Salzsäure. Der normale Magensaft löst das Eiweiß in beiden Röhrchen nach zirka zwei Stunden.

Quantitative Bestimmung

Nach Mett. Man filtriert Hühnereiweiß durch ein Stückchen Verbandgaze in ein weites Reagensglas und laßt Glasröhrchen von etwa 2 mm Lichtweite und 2 cm Länge langsam in das Eiweiß hineingleiten. Luftblasen, welche in den Glasröhrchen aufsteigen, laßt man entweichen, wobei man das Aufsteigen der Luftblaschen durch gelindes Klopfen zu befördern sucht. Dann setzt man das Gefäß mit Röhrchen in ein kochendes Wasserbad und laßt fünf bis zehn Minuten kochen. Hierauf entfernt man die Flamme und überlaßt das Glas auf mehrere Stunden einer langsamen Abkühlung. Nun zerbricht man das Reagensglas, schneidet die Röhrchen mit dem geronnenen Eiweiß aus und bewahrt sie entweder in Glycerin oder in Chloroformwasser auf.

Für jede Probe wird ein Röhrchen benutzt. Es wird zunächst mit Wasser abgewaschen, dann in ein kleines Becherglas mit 10 cm³ des filtrierten Mageninhaltcs gebracht und auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Ist durch die chemische Untersuchung das Fehlen von Salzsäure

gekochtem reinem Magensaft dient als Kontrolle. Nach zweistündiger Digestion bei Zimmertemperatur überträgt man die Röhrchen auf fünf Minuten in ein Wasserbad von 37 bis 40° C nachdem man zuvor je einen Tropfen 10%iger Chlorcalciumlösung zugesetzt hat

Die Berechnung des Labgehaltes erfolgt in der in der Käseerei üblichen Weise indem festgestellt wird wieviel der Milchlösung ein Teil des unverdünnten Magensaftes in der Versuchszeit dick legt Die Autoren fanden mittels dieser Methode immer höhere Werte als mit den alten Methoden selten fanden sich vollständig labfreie Säfte

Gallenfarbstoff Probe nach *Hauk* und *Bergeim* 10 cm^3 des filtrierten Mageninhaltes werden mit einem Überschuß gepulvertem Ammonsulfat zwei Minuten lang geschüttelt (Bei starker Grünfärbung des Mageninhaltes verdünnt man ihn so daß vier bis fünf Tropfen auf 10 cm^3 Wasser genommen werden) Der mit Ammoniumsulfat gesättigte Flüssigkeit fügt man 1 bis 3 cm^3 Aceton hinzu und mischt durch fünf bis sechsmaliges Kehren des Glases ohne zu schütteln. Das Aceton extrahiert den Gallenfarbstoff und setzt sich an der Oberfläche ab Jetzt läßt man einen Tropfen rauchender Salpetersäure aus der Wand des Reagensglases abfließen Bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff färbt sich das Aceton grün.

Blut Das Blut kann im Mageninhalt mit denselben Proben nachgewiesen werden wie in den Faeces (vgl. S 102) Die Proben werden nicht mit dem Filtrate sondern mit dem gut umgerührten unfiltrierten Magensaft ausgeführt Außerdem muß der Mageninhalt vor der Anstellung der Proben neutralisiert werden. Zu diesem Zwecke werden zu 5 cm^3 der Flüssigkeit zehn Tropfen einer 10%igen Soda lösung hinzugefügt umgeschüttelt und einige Minuten stehen gelassen

Die Ansichten der meisten Autoren über den diagnostischen Wert von Blutspuren (sogenanntes occultes Blut) im Mageninhalt können dahin zusammengefaßt werden, daß den Blutspuren keine Bedeutung beigemessen werden kann, da sowohl die Anwesenheit von Oxydasen im Speichel sowie Beimischung von geringen, durch die Söndierung erzeugten Blutmengen

die häufigsten Ursachen der positiven empfindlichen Blutreaktionen darstellen. Für diagnostische Zwecke ist daher die Untersuchung der Faeces auf occultes Blut vorzuziehen

Die quantitative chemische Untersuchung des Mageninhaltes

Bestimmung der Gesamtsäure. Bei der Bestimmung der gesamten Acidität kommen alle sauer reagierenden Substanzen des Mageninhaltes in Betracht.

Als Maß der Acidität wird jene Menge einer 0.1 n Lauge angenommen welche man zu 100 cm^3 des Mageninhaltes zufügen muß um denselben zu neutralisieren

Ausführung 5 cm^3 des filtrierten Mageninhaltes werden in einem kleinen Glaskolbchen mit einem bis zwei Tropfen einer 1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung versetzt. Aus einer Mohrschen Burette läßt man unter gutem Umschütteln solange 0.1 n Lauge zufließen bis die Flüssigkeit deutlich rötlich gefärbt bleibt. Der Stand der Flüssigkeit in der Burette wird vor und nach der Titrierung abgelesen und notiert durch Subtraktion die Menge der verbrauchten 0.1 n Lauge berechnet und mit 20 multipliziert. Bei normaler Sekretion beträgt die Gesamtsäure des Mageninhaltes nach Probefrühstück 40 bis 60 cm^3 0.1 n Natronlauge auf 100 cm^3 Mageninhalt

Bestimmung der freien Salzsäure

a) Nach Töpfer Die freie Salzsäure wird bei dieser Methode durch Titration mit 0.1 n Lauge bestimmt wobei als Indikator eine 0.5%ige alkoholische Lösung von Dimethylamidoazobenzol benutzt wird

Ausführung 5 cm^3 des Magenfiltrates werden mit ein bis zwei Tropfen der Dimethylamidoazobenzollösung versetzt. Der hellrot gewordenen Flüssigkeit wird aus der Bürette solange 0.1 n Lauge zugesetzt bis die rote Färbung der Flüssigkeit vollkommen verschwindet und der ursprünglichen gelben Farbe Platz macht. Auch hier wird die verbrauchte Menge Natronlauge mit 20 multipliziert.

Die Acidität für freie Salzsäure beträgt in der Norm nach Probefrühstück 20 bis 40 cm^3 0.1 n Natronlauge auf 100 cm^3 Mageninhalt.

Die Bestimmung der Gesamtacidität und der freien Salzsäure nach *Topfer* kann mit der selben Portion des filtrierten Mageninhaltes ausgeführt werden. Man verfährt dabei so daß man zunächst 5 cm^3 des Mageninhaltes mit Dimethylamidoazobenzol versetzt und bis zum Verschwinden der roten Farbe titriert, alsdann wird zu der Flüssigkeit Phenolphthalein zugesetzt und weiter bis zum Auftreten einer bleibenden Rosafärbung titriert. Nach jeder Titrierung wird abgelesen. Die erste Zahl zeigt die freie Salzsäure an, die zweite alle übrigen sauren Faktoren, die Summe beider Zahlen die Gesamtacidität.

Nach *Leonor Michaelis* läßt sich in derselben Probe außer der Gesamtacidität und der freien Salzsäure auch die gebundene Salzsäure bestimmen. 5 cm^3 des Filtrates versetzt man mit einem Tropfen einer 0.5%igen Lösung von Dimethylamidoazobenzol und ein bis zwei Tropfen einer 1%igen alkoholischen Lösung von Phenolphthalein und titriert mit 0.1 n Lauge. Es wird notiert: 1. Der Punkt, wo die ursprüngliche rosenrote Farbe lachsfarben geworden ist. 2. der Punkt, wo eine rein citronengelbe Farbe eingetreten ist, die bei weiterem Titrieren nicht reiner gelb wird. 3. der Punkt, wo eine merkliche dauernde Rötung eintritt. Der erste Punkt gibt die freie Salzsäure. Die Mitte zwischen dem zweiten und dritten Punkte die gesamte Salzsäure und der dritte Punkt die Gesamtacidität. Zieht man von der Menge der gesamten Salzsäure die Menge der freien ab, so erhält man die Zahl für die gebundene. Nach *Michaelis* werden dabei außer Säuren auch als Säuren wirkende Eiweißkörper mittitriert.

b) Nach *Münz*. Die Methode beruht darauf, daß man den Mageninhalt so lange mit 0.1-n-Lauge versetzt, bis eben die *Ginsburgsche* Reaktion auf freie Salzsäure verschwindet.

Ausführung. 5 cm^3 des filtrierten Mageninhaltes werden in einem Glaskolbchen mit 0.1-n-Lauge titriert. Die Normallauge wird ruckkubikzentimeterweise zugegossen und nach Zusatz von jedem Kubikzent-

meter mit einem Tropfen der Flüssigkeit die *Gömburgsche* Reaktion ausgeführt. Die Titration wird auf diese Weise bis zum vollkommenen Verschwinden der *Gömburgschen* Reaktion fortgesetzt. Die so erhaltene annähernde Zahl der zur Neutralisierung der freien Salzsäure erforderlichen 0·1-n Lauge wird alsdann genauer bestimmt, indem man andere 5 cm³ des Mageninhaltes aus der Burette mit einer Menge 0·1-n Lauge, welche um 1 cm³ geringer als die vorhergefundene ist, versetzt und dann tropfenweise die Titrationsflüssigkeit zugeßt. Nach jedem zweiten Tropfen wird die *Gömburgsche* Reaktion ausgeführt.

Findet man z. B., daß die Reaktion bei Hinzufügung von 2·5 cm³ noch positiv ausfällt, während sie bei 2·6 cm³ ansieht, so beträgt die freie Säure $2·6 \times 10 = 52 \text{ cm}^3$ 0·1-n-Lauge (auf 100 cm³ des Mageninhaltes berechnet).

Nach der Acidität für freie Salzsäure berechnet man den Prozentgehalt der Salzsäure in folgender Weise. Jeder Kubikzentimeter der 0·1 n Lauge entspricht 0·00365 g Salzsäure, so daß bei einer Acidität von 26·0 der Prozentgehalt der Salzsäure $0·00365 \times 26 = 0·0949\%$ beträgt.

Bestimmung des Salzsäuredefizits. Diese Bestimmung kann nur mit einem Mageninhalt, der keine freie Salzsäure enthält, ausgeführt werden. Unter Salzsäuredefizit versteht man diejenige Menge einer 0·1 n Salzsäurelösung, die zu 100 cm³ salzsäurefreiem Mageninhalt zugesetzt werden muß, um eine Reaktion auf freie HCl zu erhalten.

Ausführung. Zu 5 cm³ des filtrierten Mageninhaltes setzt man einen Tropfen einer 0·5%igen Lösung von Dimethylamidoazobenzol und titriert mit 0·1 n Salzsäure bis die Flüssigkeit lachsfarben wird. Die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter mit 20 multipliziert ergibt das HCl Defizit.

Quantitative Schätzung der Milchsäure. Nach *Strauss*. In einen kleinen Schütteltrichter, der eine Marke bei 5 und 25 cm³ trägt, wird Magensaft bis zur Marke 5 und darauf Äther bis zur Marke 25 eingegossen. Es wird gut durchgeschüttelt. Man läßt absetzen und bernach bis zur Marke 5 abfließen. Dann füllt man bis zur Marke 25 wieder mit Wasser auf, gibt zwei Tropfen einer 10%igen Eisenchloridlösung hinzu und schüttelt gut durch. Bei Mengen unter 0·25% tritt kaum eine Farbveränderung ein. Über 0·5% zeigt sich eine schöne Grünfärbung.

Fraktionierte Ausheberung zur Gewinnung von Aciditätskurven

Eine einmalige Bestimmung der Aciditätswerte liefert nicht selten unrichtige Vorstellungen über die Sekretionstätigkeit des Magens da der Höhepunkt der Acidität nicht immer $2\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach Probefrühstück, sondern häufig früher oder später erreicht wird. Die Methode der fraktionierten Ausheberung ermöglicht die ganze Sekretionsarbeit des Magens zu übersehen

Sie wird nach *Strauß* und *Steinitz* folgenderweise ausgeführt

Die Sondierung wird morgens beim nüchternen Patienten ausgeführt. Der im Bett aufrecht sitzende Patient wird zunächst angewiesen den Speichel in eine vorgehaltene Schale zu entleeren. Hierauf wird die etwas angefeuchtete dünne Sonde (Duodenalsonde) auf den Zungenrund gelegt und der Patient aufgefordert die Olive herunterzuschlucken. Unter aktiver Mithilfe des Patienten durch Saugbewegungen und leichtem Nachschieben gleitet die Sonde in den Magen, bis sie zunächst 45—50 cm von der Zahnreihe entfernt liegen bleibt. Jetzt legt sich der Patient auf den Rücken und bleibt ruhig liegen. Mit einer 20 cm³ Rekordspritze wird der Nuchterninhalt vorsichtig aspiriert und diese Prozedur in Abständen von 10 Minuten 2—3mal wiederholt. In den Zwischenpausen wird die Sonde mit einer Klemme verschlossen. Hat man sich unter leichtem Verschieben der Sonde davon überzeugt daß kein Sekret mehr zu gewinnen ist so wird mit einer größeren Spritze 300 cm³ ungesüßter Tee*) durch die Sonde in den Magen eingeführt und die Sonde wieder abgeklemmt. Nach 15 Minuten wird zum ersten Male aspiriert und dann alle Viertelstunden 10—15 cm³ Mageninhalt entnommen die in bereitgestellte Reagensgläser eingefüllt werden. Vor jeder Aspiration werden einige Kubikzentimeter Luft durch den Schlauch

*) Es kann auch das Alkoholprobefrühstück oder der Coffeetrunk eingeführt werden.

eingeblassen. Nach 2 Stunden wird der Versuch abgebrochen und der Schlauch vorsichtig herausgezogen. Die Untersuchung der einzelnen Proben erfolgt in der Weise daß man mit je 5 cm³ eine Bestimmung der Gesamtsäure und freien Salzsäure vornimmt und die erhaltenen Resultate in Kurvenform darstellt wobei auf die Abszisse die Zeiten auf der Koordinate die Aciditätswerte aufgetragen werden. Da die Proben größtenteils feste Bestandteile nicht enthalten so kann das Filtrieren unterbleiben.

Man unterscheidet folgende Typen von Aciditätskurven

Die normale Kurve steigt langsam an, erreicht nach 50 bis 70 Minuten das Maximum mit 40 bis 60 cm³ Gesamtsäure und sinkt dann meist langsam ab. Die Sekretionsdauer schwankt zwischen 100 und 200 Minuten.

Stille Kurven (Hochkurven) erreichen bis zur 40-ten Minute eine Gesamtsäure zwischen 0 und 130. Die Sekretionsdauer ist ganz verschieden.

Flachkurven, die sich nach großen Ulcusblutungen finden, haben einen gleichmäßigen niedrigen Verlauf (unter 30) und ungleiche Dauer. Freie Salzsäure fehlt meist.

Träge oder spatuläre Kurven. Die normale Acidität wird erst nach längerer Zeit erreicht (länger als eine Stunde). Mit der gewöhnlichen Titration findet man in diesen Fällen Sub- oder Anacidität.

Lange Kurven. Die Acidität überschreitet nie normale Höhe; sie kann sogar dauernd niedrig bleiben. Die Sekretion dauert vier bis fünf Stunden.

Lange Hochkurven findet man häufig bei Ulcus duodeni. Diese Kurven zeigen steile Anstiege und Abfälle (Klettertypus).

Ausführliches über die klinische Verwertung der Aciditätskurven enthält die Monographie von H. Strauß und H. Strauss „Die fraktionierte Anhebung zur Gewinnung von Aciditätskurven in der Diagnostik der Magenkrankheiten“, wo auch die Einzelheiten der Methodik ausführlich dargestellt sind.

Die mikroskopische Untersuchung des Mageninhaltes.

Zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung läßt man den Mageninhalt absetzen, entnimmt mit einer Pipette eine geringe Menge des Bodensatzes und verfertigt Präparate in üblicher Weise.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Mageninhaltes nach Ewaldschem Probefrühstück findet man unter normalen Verhältnissen zahlreiche Stärkekörnchen, einzelne

Hefezellen Plattenepithelien aus der Mundhöhle und wenig Schleim oder verschluckte Sputumbestandteile. Für die Diagnose haben diese Bestandteile des Chymus keinen Wert. Diagnostisch gut verwertbare Resultate können aus der mikroskopischen Untersuchung des Inhaltes des nüchternen Magens gewonnen werden. Bei Anwesenheit von Salzsäure im nüchternen Magen finden sich bei der mikroskopischen Untersuchung

1 Kerne von Leukocyten und Epithelien (das Protoplasma ist verdaut)

2 Schleim mit deutlich streifiger Struktur

3 Spiralzellen d. h. schneckenförmige Gebilde die sich aus dem Myelin des verschluckten Sputums durch Einwirkung der Salzsäure gebildet haben.

Diese drei Bestandteile findet man bei normaler Sekretion und Hypersekretion. Der Mageninhalt enthält dabei keine Speisereste. Sind im nüchternen Magen außer den erwähnten Bestandteilen noch Speisereste vorhanden so ist eine Stagnation vorhanden. Man findet dabei außer Speiseresten, die aus Stärkekörnern Muskelfasern Fetttropfen Fettsäurekristallen Gemuseresten usw. bestehen können, noch zahlreiche Sarcinen oder Hefezellen. Die Sarcine erscheint im Mageninhalt in zwei verschiedenen Formen 1 In Warenballenform, 2 in Form von regellosen Haufen oder kubisch angeordneten Ballen. Die Hefepilze erscheinen als ovale ziemlich stark lichtbrechende häufig perlschnurartig aneinandergereihte Zellen. Von kleinen Stärkekörnchen lassen sie sich durch Zusatz einer Jodjodkalilösung (Lugolsche) leicht unterscheiden. Die Stärke färbt sich blau, die Hefepilze färben sich gelb.

Beim Fehlen von Salzsäure und anderen freien Säuren (Achyln gastrica, Gastritis simplex) findet man im nüchternen Mageninhalt meist unveränderte Epithelien und einzelne Leukocyten zuweilen Amöben und Infusorien. Bei bösartigen

Erkrankungen des Magens (malignen Tumoren) finden sich außerdem rote Blutkörperchen und viele Leukozyten

Enthalt der salzfreie Mageninhalt Milchsäure so finden sich bei der mikroskopischen Untersuchung zahlreiche *Oppler Barsche Stäbchen*. Sie erscheinen als ziemlich lange meist winklig aneinandergelagerte sehr schwach bewegliche Stäbchen. Da die Milchsäuregärung bei Stagnation des Mageninhaltes stattfindet so sind im milchsäurehaltigen Mageninhalt gewöhnlich auch Speisereste vorhanden

Die Motilitätsstörungen sind besser zu erkennen bei der Untersuchung des Mageninhaltes nach Alkoholprobefrühstück da hier die genannte „*Mikroretention*“ deutlich aus. Vereinzelt mit „*Mikroreste*“ erscheinen in Form von kleinsten blauen Punkten oder beständig tingierten, in der Flüssigkeit frei herum schwimmenden sich auf den Boden setzenden Flockchen die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß sie aus Speiseresten bestehen. Der Befund von Mikroresten weckt den Verdacht einer beginnenden Motilitätsstörung durch eine Schleimhautinfiltration oder durch einen Prozeß am Pylorus (Dilatation)

Kristallinische Gebilde finden sich ziemlich selten im Mageninhalt. Es sind beschrieben Leucin- und Tyrosinkristalle (bei Stagnation) Tripelphosphattafeln und Kristalle von phosphorsaurer Magnesia (nur in alkalischen oder neutralen Magensekreten) sehr selten Cholesterintafeln

Die Untersuchung des Erbrochenen erfolgt nach denselben Methoden wie sie für den ausgeheberten Mageninhalt angegeben sind. Die Aussehen und die Zusammensetzung des Erbrochenen ist von der vorausgegangenen Nahrungsaufnahme und der Art des krankhaften Prozesses abhängig. Hier sollen nur kurz einige charakteristische Formen des Erbrochenen erwähnt werden.

Wässrig schleimiges Erbrochenes von schwach alkalischer Reaktion findet sich vielfach bei anacider Gastritis der Alkoholiker

Galliges Erbrochenes von grüner Farbe scheidet sich nach heftigen Brechakten aus

Kotiges Erbrochenes findet man bei Ileus und diffuser Peritonitis.

Blutiges Erbrochenes ist meist dunkel kaffeesatzartig und wird durch Magengeschwür oder Magenkrebs hervorgerufen kann aber auch durch verschlucktes Blut bedingt sein.

Untersuchung des Duodenalinhaltes.

Gewinnung des Untersuchungsmaterials Die Duodenalsonde ist etwa 150 cm lang und trägt vier Marken bei 45 cm (Cardia) 60 cm (Antrum) 70 cm (Pylorus) und bei 80 cm (Duodenum). Die Zahlen bedeuten die Entfernungen vom Knopf der sich am unteren Ende der Sonde befindet. Die Einführung erfolgt beim nüchternen sitzenden Patienten. Man läßt zunächst die Sonde bis zur Marke I (45 cm) hinabgleiten versieht das Schlauchende mit einer Klemme und läßt den Patienten fünf bis zehn Minuten herumgehen wobei durch Schluckbewegungen die Sonde allmählich bis zur Marke II (60 cm) heruntergleitet. Hierauf wird der Patient in rechter Seitenlage aufs Bett gelegt die Sonde weiter bis Marke 70 geschluckt und die Klemme entfernt. Jetzt wird mit der Spritze eine Probe Saft entnommen. Bei richtiger Lage der Sonde fließt ein klarer auf Lackmus alkalisch reagierender gallig gefärbter Inhalt spontan heraus. Ist der Übergang vom Magen zum Zwölffingerdarm schwierig, so läßt man zur Neutralisierung des Magensaftes etwas Natriumbicarbonatlösung neben der Sonde trinken. Den spontan abfließenden Duodenalinhalt läßt man in Reagensgläser sammeln wobei die Gläser alle fünf Minuten gewechselt werden. Bei der Untersuchung des Duodenalinhaltes kommen folgende Bestimmungen in Betracht:

1 Menge 2 Farbe 3 Billirubingehalt, 4. Trypsin
5 Diastase 6 Lipase 7 Mikroskopischer Befund.

Der zuerst aus der Sonde abfließende Duodenalinhalt ist goldgelb gefärbt diese Farbe ist durch Leber

angegebenen Methodik ausgeführt. Es ist dabei zu achten, daß das Untersuchungsmaterial alkalisch reagiert

Die Lipase wird nach der bei der Blutuntersuchung angegebenen Methode (Rona und Michaelis) bestimmt.

Sehr wesentlich für die Diagnose ist die mikroskopische Untersuchung des Duodenalinhaltes.

Der auf nüchternem Magen entleerte Duodenalinhalt muß zur mikroskopischen Untersuchung sofort zentrifugiert werden da bei längerem Stehen die Formelemente und Mikroorganismen durch die Verdauungsfermente (Trypsin Lipase) angegriffen bzw aufgelöst werden. Aus diesem Grunde liefert die Untersuchung des aus der Leiche gewonnenen Materials keine zuverlässigen Resultate.

Der normale Duodenalinhalt enthält nur sehr wenig Formelemente vereinzelte Leukocyten und Zylinder epithelien. Mikroorganismen sind nicht nachweisbar

Für Krankheiten sind nach Brugsch folgende Befunde charakteristisch

Beim Duodenalkatarrh findet man im Schleim eingelagerte Leukocyten und Duodenalepithelien sowie milchsäurebildende Enterokokken und Bacillen, zu weilen auch Bacterium coli. Diese Mikroorganismen sind jedoch nicht pathogen und man bezeichnet daher diese Krankheit als banalen Duodenalkatarrh. Von diesem akuten oder subakuten banalen Katarrh unterscheidet sich der chronische Duodenalinfekt dadurch, daß hier pathogene Mikroorganismen das Bild beherrschen, und zwar Colibakterien Staphylokokken Streptokokken, Proteus Streptotrichen usw. Für die Diagnose ist die Untersuchung des Gram Präparates ausreichend. Eine Züchtung ist nicht erforderlich

Bei Duodenalulcus wechselt das Bild zu weilen ist das Sediment zellarm in anderen Fällen treten palisadenartig gelagerte Zylinderepithelien auf. Diese unterscheiden sich von Zylinderzellen aus den Gallen

wegen dadurch daß sie farblos sind während erstere durch Galle gefärbt sind. Außerdem treten hier stets rote Blutkörperchen auf und, wenn das Geschwür infiziert ist auch Bakterien.

Für das Carcinom des Duodenums ist charakteristisch der Befund von *Opler Boasschen* Stäbchen (wie bei Magencarcinom) von roten Blutkörperchen und großen vacuolisierten und fettig-degenerierten Epithelien. Besonders carcinomverdächtig ist der Fall wenn diese Epithelien in Haufen gelagert sind.

Für die Erkrankungen der Leber und Gallenwege ist charakteristisch daß sämtliche Zellelemente, die aus diesen Organen stammen ikterisch gefärbt sind. Die infektiöse Cholecystitis und infektiöse Cholangitis sind durch drei Merkmale gekennzeichnet Eiter Epithelien Bakterien. Für die Cholecystitis ist die runde Eiterflocke charakteristisch. Sie enthält Bakterien und Epitheldetritus.

Bei Cholangitis zeigen sich Leukocytenzylinder aus denen später lockere granulierte zylindrische Massen entstehen.

Von Parasiten findet man im Duodenalinhalt am häufigsten die *Lambia intestinalis* sie sind in großer Anzahl im Schleimflocken eingelagert. Seltener sind die Eier von *Distomum hepaticum* und *Distomum felineum* anzutreffen. Diese Eier fallen durch ihre Größe auf. Ascariden können ebenfalls durch Feststellung ihrer Eier erkannt werden. Ein seltener Befund ist das Auftreten von Echinokokkushaken im Duodenalinhalt.

VI Kapitel.

Die Untersuchung der Faeces

Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Die klinische Untersuchung des Stuhles wird größtenteils zur Funktionsprüfung des Darmes vorgenommen und

daher scheint es am zweckmäßigsten diese Untersuchung nach Probekost auszuführen. Bei freigewählter gemischter Kost können nur größere Abweichungen von der normalen Beschaffenheit der Faeces erkannt werden, feinere Verdauungsstörungen werden aber dabei sehr leicht verwischt und lassen sich nur mit Hilfe der Probekost feststellen. Für praktische Zwecke ist die *Schmidtsche* allgemeine Probekost am besten geeignet, sie hat folgende Zusammensetzung: Morgens 0·5 l Milch oder Tee oder Kakao dazu eine Semmel mit Butter oder ein weiches Ei. Vormittags Ein Teller Haferschleimsuppe mit Milch gekocht durchgeseiht. Mittags 0·25 Pfund gut gehacktes mageres Rindfleisch mit Butter leicht überbraten (inwendig roh). Dazu eine nicht zu kleine Portion Kartoffelbrei (durchgeseiht). Nachmittags Wie morgens aber kein Ei. Abends 0·5 l Milch oder ein Teller Suppe (wie zum Frühstück). Dazu eine Semmel mit Butter oder ein bis zwei weiche Eier (oder Rührei).

Ausnahmsweise kann noch abends etwas Rotwein, etwas Kaffee Bouillon, etwas gehacktes Kalbfleisch gestattet werden. Die Verteilung der Speisen auf die einzelnen Mahlzeiten kann geändert werden. Die Probekost wird zwei bis drei Tage gegessen. Der Stuhlgang wird am dritten Tage untersucht. Die Faeces, die von der Probekost herrühren, können auch durch eine Oblate, die 0·3 g Karmin enthält, abgegrenzt werden.

Zum Auffangen der Faeces benutzt man am zweckmäßigsten für ambulante Patienten ein nicht zu kleines Einmachglas mit gutem Verschuß. Die Faeces sollen möglichst bald nach der Entleerung untersucht werden, da beim Stehen an der Luft manche Veränderungen eintreten können.

Die klinische Untersuchung der Faeces zerfällt in drei Abschnitte:

- a) Die makroskopische Untersuchung
- b) die mikroskopische Untersuchung,
- c) die chemische Untersuchung

Makroskopische Untersuchung

Die makroskopische Untersuchung ist der praktisch wichtigste Teil der Faecesuntersuchung sie darf sich nicht auf die einfache Besichtigung beschränken sondern soll möglichst alle erkennbaren Bestandteile feststellen. Zu diesem Zwecke wird der Stuhlgang auf einer flachen Unterlage (Teller oder Schale) gut ausgebreitet und zunächst auf seine Farbe, Konsistenz Menge und Beimischung von größeren Schleimpartikeln Blut groberen unverdauten Speiseresten untersucht. Zur weiteren genaueren Inspektion wird jetzt der Stuhl mit Wasser *verrieben* und bis zur Konsistenz einer Sauce verdünnt. Zunächst wird der gesamte Stuhl mit einem dicken Glasstabe gründlich durch einandergerührt ein etwa walnußgroßes Stück davon wird in eine Schale übertragen und hierin unter allmählichem Zusatz von Wasser mit einem Pistill fein *verrieben*. Die zerriebene dünnbreiige Masse wird zur genauen Beachtung am besten auf einem schwarzen Teller ausgebreitet. Der normale Stuhl nach Probediät zeigt dabei eine gleichmäßige Beschaffenheit und läßt nur vereinzelte kleinste braune Punkte erkennen die bei der mikroskopischen Untersuchung als Pflanzenreste aus dem Haferschleim oder Kakao erkannt werden können.

Unter pathologischen Verhältnissen finden sich

- a) Unverdaute Nahrungsreste (Bindegewebe Fleisch und Kartoffelreste, Fettklumpchen)
- b) Schleim Blut oder Eiter
- c) Gewebs- bzw. Geschwulstteile
- d) Darm und Gallensteine
- e) Würmer oder ihre Teile.

Farbe. Unter normalen Verhältnissen ist beim Erwachsenen das Urobilin der eigentliche Kotfarbstoff. Bilirubin kommt normalerweise nur bei Säuglingen vor. Die Färbung der Faeces wird aber nicht allein durch die Farb-

Stuhl der Säuglinge fast geruchlos Jeder stinkende Säuglingsstuhl muß infolgedessen als pathologisch betrachtet werden

Bei akuten und chronischen Diarrhöen ist der Stuhl sehr oft geruchlos die charakteristischen „reiswasserartigen“ Stühle bei Cholera asiatica sind ebenfalls meist geruchlos. Einen eigenartigen leimartigen Geruch zeigen die Entleerungen bei Amöbendysenterien Acholische Stühle sind an sich fast geruchlos sie bekommen einen üblen Geruch erst dann wenn Zersetzungsprozesse infolge von Darmatonie den Gallenmangel begleiten Fötid riechende Stühle kommen in Fällen von ulcerierenden und in Zerfall begriffenen Mastdarmcarcinomen vor

Menge der Stuhlmenge Die Menge der täglich entleerten Exkremente unterliegt auch unter normalen Verhältnissen sehr großen Schwankungen Hauptsächlich ist die Menge der Faeces von der Quantität und Art der Nahrung und dem Zustande der Verdauungsorgane abhängig Vegetabilische Nahrungsmittel geben eine bedeutend größere Kotmenge als animalische. Bei ausschließlicher Kartoffelkost werden nach *Rubner* 635 g bei Schwarzbrotkost 815 g pro die entleert bei ausschließlicher Fleisch und Eierkost nur 64 g Bei pathologischen Veränderungen der Verdauungsorgane kann die Quantität der Faeces entweder durch Störung der Resorption oder durch Beimischung pathologischer Produkte der Darmwand (Schleim Eiter Blut) bedeutend vermehrt werden Nach *A. Schmidt* werden bei Probekost in der Norm 250 g bei Gärungsdyspepsie 779 bei gastrogenen Diarrhöen 527 Gallenabschluß 944 und schwerer Enteritis 2780 g pro die entleert.

Makroskopisch sichtbare Beimischungen

a) Unverdaute Nahrungsreste.

Von den Bestandteilen der animalischen Kost werden normalerweise nur die schwer verdaulichen oder zufällig verschluckten Knochen Knorpel Gräten und Sehnen in

den Faeces gefunden. Von der vegetabilischen Nahrung geben Mehlspeisen, Weißbrot, Kartoffeln und saftige Früchte (ohne Schale) keine makroskopisch erkennbaren unverdauten Bestandteile. Fast unverändert passieren den Darmkanal und erscheinen im Kot. Rohe Gemüse (Gurken, Kopfsalat, Zwiebeln usw.) viele Fruchtarten (Preißelbeeren, Nüsse, Korinthen). Gekochte Früchte und Gemüse werden bedeutend besser verdaut und es erscheinen in makroskopisch erkennbarer Form nur die schlecht gekochten und mangelhaft zerkleinerten Teile.

Eine diagnostische Bedeutung haben die unter pathologischen Verhältnissen im Stuhle makroskopisch sichtbaren Nahrungsreste, die normalerweise gut verdaut werden. Hierher gehören:

1. **Bindegewebsreste** aus genossenem Hackfleisch. Sie erscheinen in der verriebenen Kotmasse als weißgelbe fädige Fetzen, die sich vom Schleim durch ihre feste Konsistenz unterscheiden. Sie treten nach Schmidt hauptsächlich bei Achylie und Subacidität auf. Bei mangelhafter Zubereitung oder Genuß von rohen und gerancherten Fleischsorten kann unverdautes Bindegewebe auch bei normaler Verdauung im Stuhle erscheinen.

2. **Reste von Muskelgewebe** sind als makroskopisch erkennbare Beimischung des Stuhles ziemlich selten zu finden. Sie erscheinen als kleine, braun gefarbte, wie Holzsplitter aussehende Stäbchen. Sie sind weich und lassen sich auf dem Objektträger leicht zerdrücken, so daß durch die mikroskopische Untersuchung ihre Zusammensetzung aus Muskelfasern sich leicht kontrollieren läßt. Ihr Auftreten im Probefäkalstuhl ist für eine Störung der Dünndarmverdauung, speziell der pankreatischen Verdauung, charakteristisch.

3. **Caseinreste**, die bei Verdauungsstörungen bei Kindern im Stuhle gefunden werden, bestehen eigentlich zum größten Teil aus Fett und enthalten nur wenig Casein. Ihre Identifizierung ist sehr schwierig.

4 *Fettreste* zeigen sich bei schweren Durchfällen zuweilen als kleine weißgelbe weiche Klumpen die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als nur aus Fett bestehende Gebilde manifestieren. In seltenen Fällen von Pankreaserkrankungen wird mit dem Kote flüssiges Neutralfett entleert das an der Luft erstarrt und den ganzen Kot wie eine Butterkruste bedeckt. Viel häufiger läßt sich eine starke Vermehrung des Fettgehaltes der Faeces nach der weißgelben Tonfarbe und lehmartigen Beschaffenheit erkennen.

b) *Schleim* kommt am häufigsten in zwei Formen im Stuhle vor

1 In Form von größeren Fetzen und Klumpen die meist auf der Oberfläche der Kotmassen gelagert sind und sich leicht mit der Pinzette entfernen lassen

2 als ganz kleine mit der Kotmasse innig vermischte Flocken die sich nur in dem mit Wasser verriebenen Stuhle feststellen lassen. Man erkennt diese kleinen Schleimteilchen am besten wenn man die flüssige Kotmasse in dünner Schicht an einer gegen das Licht gehaltenen Glaswand abfließen läßt.

Eine besondere Art von Schleimabsonderung bilden die Abgänge der sogenannten *Enteritis membranacea*. Sie erscheinen in Form von bandartigen Streifen oder Häuten als solide Knoten oder röhrenförmige Gebilde. Da diese Gebilde meist sehr zellreich und eiweißhaltig sind so zeigen sie zuweilen eine feste lederartige Konsistenz.

Reiner Eiter ist makroskopisch meist nicht erkennbar im Stuhle da er mit der Hauptmasse der Faeces sich innig vermischt. Ist der Eiter mit Schleim vermischt so entstehen Gebilde von schleimig-eitrigem Charakter die mikroskopisch durch ihren großen Gehalt an Leukocyten auffallen.

Makroskopisch erkennbare Blutbeimischungen zu den Faeces finden sich oft mit Schleim oder Eiter abgängen verbunden. Am häufigsten bei Hämorrhoiden

Rhagaden am Anus Polypen des Rectums und der Flexur Blut aus höheren Darmabschnitten erscheint meist in zersetztem Zustande. Reichliche Blutungen bedingen die bekannte Teerfarbe des Stuhles

c) Geschwulstpartikel (Carcinomfragmente exfoliierte Darmpolypen) sowie Gewebsetzen (bei dysenterischen und anderen Ulcerationen) können nur mit Hilfe einer genauen histologischen Untersuchung erkannt werden da sie makroskopisch mit unverdauten Fleischresten verwechselt werden können.

Von den makroskopisch erkennbaren Parasiten sind die häufigsten Proglottiden der Bandwürmer *Ascaris lumbricoides* *Anchylostoma duodenale* und *Oxyuris vermicularis* selten sind Insekten und deren Larven

d) Darm und Gallensteine unterscheiden sich zwar meist von den anderen Bestandteilen der Faeces durch ihre Form Konsistenz und Oberfläche nicht selten aber werden sie mit verschiedenen anderen festen Bestandteilen des Stuhles verwechselt so daß nur eine genauere chemisch mikroskopische Untersuchung in jedem einzelnen Falle eine sichere Feststellung der Natur des fraglichen Gebildes ermöglicht.

Die zufällig verschluckten und im Kot wieder erscheinenden Fremdkörper sind von sehr verschieden artiger Natur Sie passieren meist unverändert den Darmtraktus und sind daher in der Regel ohne weitere Prüfung leicht erkennbar Um die Aufsuchung von Steinen oder Bandwurmgliedern zu erleichtern empfiehlt es sich die Faeces durch ein Stuhlsieb passieren zu lassen.

Die mikroskopische Untersuchung der Faeces

Flüssige oder dünnbreiige Stühle gießt man in eine flache Schale aus entnimmt wenn sie von einer gleichmäßigen Beschaffenheit sind ein stecknadelkopfgroßes Stückchen und verteilt es zwischen Objektträger und Deckglas. Finden sich makroskopisch verschieden aussehende

Beimischungen so müssen sie getrennt untersucht werden. Sehr dünnflüssige Stühle läßt man absetzen oder zentrifugiert und untersucht dann das Sediment. Feste Stühle werden mit Wasser oder einer physiologischen Kochsalzlösung verrieben. Es werden mindestens drei Präparate angefertigt: eines ohne Zusatz, eines mit Zusatz Lugolscher Lösung (ein bis zwei Tropfen) zur Erkennung von Stärke und granulosehaltigen Mikroben und eines mit Zusatz 30%iger Essigsäure.

Bei der mikroskopischen Untersuchung kommt es in erster Linie darauf an, die eventuell vorhandenen Verdauungsstörungen festzustellen. Die Verdauung der Eiweißsubstanzen wird nach der Menge und Beschaffenheit der Fleischreste, die Fettverdauung nach der Menge der Fettsubstanzen, die Verdauung der Kohlenhydrate nach der Anwesenheit von Stärke beurteilt.

Ferner sind von Bedeutung

- a) die pathologischen Produkte der Darmwand
- b) die Mikroorganismen und Würmer

Muskelfasern. Sie sind im Stuhle fast immer durch Gallenfarbstoffe stark gefärbt und daher leicht zu finden. Nach Schmidt können sie nach ihrer Form und Struktur in drei Gruppen eingeteilt werden:

- a) Große, deutlich gestreifte Stücke mit scharfen eckigen Konturen
- b) mittlere, an den Ecken abgerundete Rechtecke oder Quadrate, deren Streifung noch zu erkennen ist
- c) kleine, polygonale oder rundliche Schollen, meist homogen oder mit verwaschener Zeichnung. Im normalen Probierdiätstuhl findet man meist nur Muskelfasern der Gruppen b und c (Tafel VI Fig. 2).

Findet man bei beschränkter Fleischzufuhr viele wenig veränderte Muskelfasern im Stuhle, so ist eine Funktionsstörung des Dünndarmes bzw. der Pan-

Pankreasverdauung anzunehmen. Bei ungenügender Zerkleinerung der Speisen durch das Kauen erscheinen nicht selten auch beim gesunden Menschen im Stuhle schon makroskopisch sichtbare fetzige Gebilde welche hauptsächlich aus halbverdauten Fleischresten bestehen. Bei stark ausgesprochenen Störungen der Pankreasverdauung bei welchen große Mengen von unverdauten Muskelresten

Fig. 8.



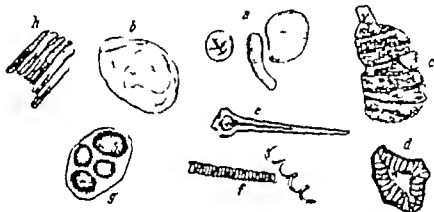
a Bindegewebe b Charcot-Leyden'sche Kristalle, c Blaustrichkristalle d encystierte Flagellaten.

abgehen findet man zuweilen Muskelfasern mit erhaltenen Kernen Ad Schmidt hat zur Prüfung der Pankreasfunktion eine spezielle sogenannte Kernprobe angegeben die darauf beruht daß bei Fehlen der Pankreasverdauung die Kerne der Zellen in unverändertem Zustande im Stuhle erscheinen

Bindegewebsfetzen sind sehr oft schon bei der makroskopischen Betrachtung der Faeces sichtbar Sie erscheinen als kleine weißliche Fetzen Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigen sie eine fädige Struktur mit zarter oft kaum erkennbarer Faserung

(Fig 8) An einzelnen Stellen treten die eingestreuten elastischen Fasern deutlich hervor. Durch Zusatz von Essigsäure verschwindet die Struktur des Bindegewebes während die elastischen Fasern deutlicher sichtbar werden. Das Vorhandensein größerer Mengen von Bindegewebe im Stuhle nach Zufuhr einer mäßigen Fleischquantität (100 g) spricht für eine Störung der Magenverdauung weil nur der Magensaft rohes oder unvollständig

Fig 9



a Freie Stärke, b Kartoffelzelle, c Samenhaut von Zerealien d Steinzelle aus Birnen, e Haare von der Epidermis der Pflanzen, f Pflanzengefäße, g Sporen von Morcheln, h Palisadenzellen

gekochtes Bindegewebe zu lösen imstande ist. Normalerweise kann nur nach Zufuhr von geräucherten Fleischsorten Bindegewebe im Stuhle erscheinen weil dieses rohe Bindegewebe am schwersten verdaut wird.

Stärkekörner (Fig 9) erscheinen vereinzelt auch in normalen Stühlen. Sind sie bedeutend vermehrt so ist eine Dunndarmerkrankung anzunehmen. Zur sicheren Feststellung der freien Stärke setzt man einen bis zwei Tropfen Lugolscher Lösung dem Präparate hinzu. Eine blaue Färbung spricht für Stärke. In den Stühlen von künstlich ernährten Säuglingen ist die freie Stärke nor

malerweise etwas vermehrt besonders häufig erscheint die Bananenstärke in den Entleerungen.

Fett. Das Fett kommt in kleinen Mengen in allen Stühlen vor und erscheint in Form von Tropfen Schollen (Neutralfett) oder in nadelförmigen Kristallen (Fettsäuren Seifen) (Tafel VI Fig 2) Die Fettsäuren scheiden sich größtenteils in Form von langen schlanken Nadeln während die Seifenkristalle kurze und plumpe Nadeln bilden. Die Seifen zeigen sich häufig in Schollenform (Kringel doppelt konturierte runde Schollen) Die Fettsäuren sind in Äther leicht löslich während die Seifen zur Auflösung erst durch Säuren gespalten werden müssen Tropfen und Schollen von Neutralfett färben sich nach Zusatz einer gesättigten alkoholischen Lösung von Sudan III orange bis blutrot Fettsäuren und Seifen bleiben dabei ungefärbt. Zur Feststellung einer Fettvermehrung in denjenigen Fällen bei welchen das Fett in amorpher schwer erkennbarer Form ausgeschieden wird versetzt man das Präparat mit zwei bis drei Tropfen 30%iger Essigsäure und erwärmt über der Flamme Das Fett erscheint dann bei der mikroskopischen Untersuchung in Tropfenform Beim Abkühlen zeigen sich Fettsäurenadeln

Eine Vermehrung der Fettmengen im Stuhle findet man bei allen krankhaften Zuständen bei denen die Resorption des Nahrungsfettes erschwert ist (Darmschleimhauterkrankungen Störungen der Gallenabsonderung usw.)

Cellulose. Mit diesem Namen werden sämtliche pflanzlichen faserstoffhaltigen Nahrungsstoffe bezeichnet. Sie haben zwar für die Diagnose wenig Wert, ihre Kenntnis ist jedoch notwendig um sie in dem mikroskopischen Bilde der Faeces schnell auffinden zu können. Übrigens besitzen nach *Adolf Schmidt* manche von ihnen z. B. die Kartoffelzellen eine Bedeutung bei der Diagnose des Gärungskatarrhs. Ihr Auftreten in reichlicher Anzahl spricht für mangelhafte Celluloseverdauung was für diese Verdauungs-

störung charakteristisch sein soll. In den Lugol Präparaten findet man dabei in den Kartoffelzellen eingelagerte blau gefärbte Stärke außerdem noch iodophile Mikroorganismen. Fig 9 zeigt die häufig vorkommenden Cellulosereste.

Von kristallinen Gebilden findet man bei der mikroskopischen Untersuchung der Faeces außer den schon erwähnten Seifen und Fettsäurekristallen noch folgende Tripelphosphate (Sargdeckel) neutralen phosphorsauren Kalk Magnesiumphosphat Calciumoxalat (Briefkuverts) kohlen sauren Kalk, Gipskristalle, Cholesterin, *Charcot Leydensche* Kristalle Bismutkristalle (Fig 8) Billrubinkristalle.

Von den pathologischen Produkten der Darmwand sind besonders zu berücksichtigen

Schleim. Derselbe erscheint im mikroskopischen Bilde als eine strukturlose durchsichtige Masse in welcher oft Epithelien Leucocyten Kristalle oder Nahrungsreste eingebettet sind Nach Zusatz von Essigsäure (die Schleim flocke wird mit dem Reagens gründlich durchgemischt) wird eine streifige Fällung der Grundsubstanz sichtbar Die Anwesenheit von Schleim in den Faeces zeigt fast immer einen pathologischen Zustand der Darmschleim haut an Einlagerung von Bilirubin in kleinen Schleim flocken spricht für ihre Herkunft aus dem Dünndarm.

Epithelien. Pflasterepithelien kommen sehr selten im Stuhle vor (Erkrankungen des Rectums) häufiger findet man Zylinderepithelien. Sie erscheinen ziemlich selten unverändert häufiger in sogenannter verschollter Form oder in halbverdaulichem Zustande. Findet man in kleinen Schleimfetzen nur halbverdaute Epithelien so ist eine Entzündung des Dünndarmes anzunehmen. Verschollte Epithelien stammen meist aus dem Dickdarm Im allgemeinen zeigt die Anwesenheit größerer Mengen von Epithelien im Stuhle eine katarrhalische Entzündung der Darmschleimhaut an.

Leukocyten in geringer Anzahl findet man in jeder Schleimflocke. Wenn sie in großer Menge auftreten so deutet dies auf ulceröse Prozesse im Darm hin.

Rote Blutkörperchen erscheinen im Stuhlgange in unverändertem Zustande nur dann wenn das Blut aus den untersten Abschnitten des Darmes stammt und nur kurze Zeit im Darm verweilt hat. Kommt das Blut von den höheren Teilen des Darmes so findet man nur selten sogenannte Blutschatten in der Regel aber werden die roten Blutkörperchen nicht mehr nachweisbar sein.

Tierische Parasiten

1 Amöben Die beim Menschen parasitierenden Darmamöben gehören zwei Gattungen

1 Entamoeba.

2 Endolimax.

Sie unterscheiden sich durch den Bau des Kernes. Der Kern der Entamoeben hat ein kleines zentral gelegenes Körnchen (Karyosom) und an der Peripherie in der Nähe der Kernmembran viel Chromatin. Bei den Endolimax ist das Karyosom groß es ist umgeben von einer schmalen sogenannten Kernsaftzone, die nach außen durch eine Kernmembran begrenzt ist an der sich wenig oder kein Chromatin befindet. Es parasitieren beim Menschen folgende Amöben 1 Entamoeba coli 2 Entamoeba histolytica 3 Entamoeba tenuis 4 Endolimax nana 5 Endolimax Williamsi.

1 Entamoeba coli (Fig 10 a, b) ist die gewöhnliche in jedem Klima vorkommende menschliche Darmamöbe. Sie bewohnt nur das Darmlumen nicht wie die Histolytica die Darmwand. Die vegetative Form ist 15—30 μ groß sehr träge die Pseudopodien werden sehr langsam ausgestoßen in ruhendem Zustande sind Ekto- und Endoplasma nicht zu unterscheiden. Der Kern ist kugelig mit kleinem zentralen Karyosom und viel Chromatin an der

Kernmembran Die Nahrung besteht hauptsächlich aus Bakterien Stärkekörnern Fetttröpfchen usw. Die Cysten bilden sich nur in dem Darm. Sie sind meist kugelförmig haben eine stark lichtbrechende Wand. Durch Kernteilung entstehen 2 4 8 seltener 16 und mehr Kerne. In den ein- und zweikernigen Cysten ist zuweilen eine Glycogenvakuole sichtbar. Meist findet man 2- und 8-kernige Cysten 1 und 4-kernige sind selten.

2 *Entamoeba histolytica* (Fig 10c) wird jetzt als der einzige Erreger der Amöbendysenterie angesehen. *Entamoeba tetragenes* ist mit der *histolytica* identisch. Der blutige Schleim bei der akuten Dysenterie enthält die große vegetative Form der *Entamoeba histolytica* die von den anderen Amöben durch ihre charakteristischen Merkmale leicht zu unterscheiden ist. Wenn der akute Anfall vorüber und der Stuhl fester geworden ist kann die *E. histolytica* in anderen Formen ausgeschieden werden und zwar entweder als kleine vegetative oder Minutiform oder in Cystenform.

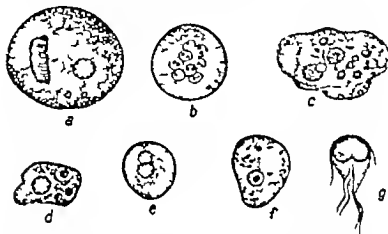
Die große vegetative Form ist ein Darmwandparasit, während die Minutiform und die Cysten das Darmlumen bewohnen. Die Minutiform zeigt in biologischer und morphologischer Hinsicht eine derartig große Ähnlichkeit mit der vegetativen Form der Coliamöbe, daß eine Unterscheidung meist unmöglich ist bevor die Minutiform als Variation der *Histolytica* entdeckt wurde, hat man sie schon als Coliamöbe beschrieben.

Die große vegetative Form der *E. histolytica* ist 20—40 μ groß und läßt stets gut das Endo- und Ektoplasma unterscheiden. Typisch ist die Art wie die Pseudopodien gebildet werden. Sie entstehen plötzlich es ist, als ob die äußere Wand der Ektoplasma zerreiße und das Pseudopodium unter hohem Druck ausgestoßen würde. Bei der *E. coli* werden die Pseudopodien langsam gebildet so daß man ihre Entstehung verfolgen kann.

Für die große Form der *E. histolytica* ist ferner die Art ihrer Ernährung typisch. Die Nahrung besteht hauptsächlich aus roten Blutkörperchen die als kugelige stark lichtbrechende und gefärbte Gebilde innerhalb der Amöbe gefunden werden

Der Kern der großen vegetativen Form der *E. histolytica* ist kugelig 4—8 μ groß und im Eosinpräparat gut

Fig 10



a *Entamoeba coli* vegetative Form b Cyste c *Entamoeba histolytica*
d *Entamoeba minuta*, e Cyste f *Endolimax Williamsi*, g *Lamblia intestinalis*. (Nach Brugg)

zu sehen man unterscheidet deutlich den Kreis der peripher liegenden Chromatinkörner. Das kleine zentrale Karyosom ist auch mitunter in der lebenden Amöbe zu sehen

Die Minuta oder kleine vegetative Form entsteht aus der großen vegetativen Form sobald der Parasit die Darmwand verlassen hat und in den fäkulenten Darminhalt übergegangen ist. Umgekehrt kann die große Form auch aus der kleinen entstehen. Die Minutaform ist 10—20 μ groß und gleicht in jeder Hinsicht der vegetativen Form der *Entamoeba coli*. Nur nach der Art wie sie ihre Pseudopodien bilden können die Minutaformen

als solche erkannt werden da sie in dieser Hinsicht der großen vegetativen Form gleichen.

Die Cysten entstehen aus der Minutaform so daß diese Form als Zwischenstadium zwischen der großen vegetativen Form und der Cyste betrachtet werden kann. Im Anfang ist die Cyste einkernig worauf durch zweimal wiederholte Kernteilung 2 bis 4 kernige Cysten entstehen. Weitere Teilung die zu einer 8 kernigen Cyste führt ist bei der *Histolytica* selten. Die Wand der *Histolyticacysten* ist dünner und weniger lichtbrechend als die der *Collicysten*. Die Kerne treten nicht so scharf hervor als in den *Collicysten*. In den einkernigen Cysten ist nicht häufig Glucogenvakuole zu sehen. Der Kern ragt häufig in die Vakuole hinein. Die Größe der Cysten variiert zwischen 10—15 μ . Selten finden sich Cysten von 20 μ . Im Stuhle können gleichzeitig Minutaformen und Cysten gefunden werden.

Entamoeba tenella (*E. minutissima* nach Brug) wird von manchen Autoren nicht als selbständige Art anerkannt, sondern als sehr kleine Abart der *E. histolytica* betrachtet. Ob es sich um eine pathogene Form handelt, ist nicht bekannt. Die vegetative Form ist 6—8 μ groß, Ekto- und Endoplasma sind nicht getrennt. Die Bildung der Pseudopodien geschieht schnell, aber nicht stoßweise. Der Kern ist in der lebenden Amöbe nicht zu sehen. Die Cysten sind entsprechend klein. Die Kerne sind häufig schlecht zu sehen, weil sie durch die Chromidien bedeckt werden. In den einkernigen Cysten fehlt die Vakuole.

Endolimax nana und *Endolimax Williamsi* sind erst in der letzten Zeit als Parasiten des menschlichen Darmes entdeckt worden. *E. nana* ist klein (unter 10 μ). *E. Williamsi* (Fig 10 f) ist größer (8—20 μ). beide Parasiten werden von den Entamöben durch die typische Struktur des Kernes der vegetativen Form differenziert (großes Karyosom aus stark lichtbrechenden Körnchen. Um das Karyosom ein lichter Hof der von der Kernmembran durch eine dunklere konzentrische Zone getrennt ist).

Die Technik der Untersuchung der Faeces auf Amöben. Am einfachsten gestaltet sich die Untersuchung, wenn blutig-schleimiger Stuhl vorliegt.

der noch körperwarm erhalten ist. In diesen Fällen genügt es eine Schleimpartikel ohne jede Bearbeitung mikroskopisch zu untersuchen. Man kann dabei die großen vegetativen Formen der *Histolytica* gut beobachten, besonders wenn ein heizbarer Objekttisch zu Verfügung steht. Um die Kerne der Amöben, die Nahrungsbestandteile und die Glycogenvakuolen deutlich zu beobachten, werden Eosin bzw. Jodpräparate hergestellt.

Zur Anfertigung eines Eosinpräparates verreibt man auf dem Objektträger eine geringe Menge Faeces mit einem Tropfen einer wässrigen 2%igen Eosinlösung. Das Präparat muß bei durchfallendem Licht hellrosa erscheinen. Lebende Amöben färben sich nicht mit Eosin. Beim Absterben färbt sich zunächst der Kern rot, nach einiger Zeit folgt die Färbung des Protoplasmas. Bisweilen wird der Kern ausgestoßen, das Protoplasma verflüssigt sich und verschwindet. Abgestorbene Amöbencysten färben sich ebenfalls rot und behalten ihre Struktur längere Zeit.

Für Untersuchungen in Jodlösung empfiehlt Brug die Weigertsche Lösung: Jod 10, Jodkali 2,0, Aqu. dest. 100,0. In den Jodpräparaten treten die Kerne der vegetativen Formen und der Cysten besonders deutlich hervor. Es handelt sich dabei nicht um eine Färbung der Kerne, sondern nur um Änderung ihrer Lichtbrechung. Eine Färbung ist nur bei den eingeschlossenen Stärkekörnern und in den Glycogenvakuolen zu beobachten.

Die Herstellung von fixierten und gefärbten Präparaten (nach *Delafeld* bzw. *Heidenhain*) ist mit großen Schwierigkeiten verbunden und sehr zeitraubend. Für klinische Zwecke sind sie entbehrlich.

Für die Diagnose der Amöbendysenterie kommt hauptsächlich die Differentialdiagnose zwischen *Entamoeba coli* und *E. histolytica* in Frage. Hierbei sind folgende Merkmale maßgebend:

1. Findet man die Amöben im hellen, blutigen Schleim, so handelt es sich wahrscheinlich um *E. histolytica*.

2 Für *Histolytica* spricht das Ausstoßen der Pseudopodien mit einem Ruck.

3 Ebenso charakteristisch für *Histolytica* ist das Vorhandensein eines hyallinen Ektoplasmasaumes in der ruhenden Amöbe.

4 Die Feststellung von roten Blutkörperchen innerhalb der Amöbe gibt Sicherheit für die Diagnose der *Histolytica*.

Diese 4 Eigenschaften der vegetativen Form der *E. histolytica* sind im Eosinpräparat festzustellen.

Sehr schwierig ist die Differentialdiagnose wenn diese nur nach den Cysten gestellt werden soll. Es sollen dabei folgende Unterschiede zwischen *Coli* und *Histolytica* cysten berücksichtigt werden. Die *Histolyticacysten* sind kleiner — meist unter 15μ — ihre Wand ist weniger lichtbrechend die Zahl der Kerne ist kleiner (1—2—4) die Kerne selbst sind verhältnismäßig kleiner. Eine Glycogen vakuole findet man bei der *Histolytica* in den einkernigen bei *Coli* in den zweikernigen Cysten. Da keiner dieser Unterschiede allein die Diagnose sicherstellt so ist meist aus der Gesamtheit der Eigenschaften und auf Grund wiederholter Untersuchungen ein brauchbares Resultat zu erlangen. Es ist auch zu berücksichtigen daß die Amöben häufig schubweise ausgeschieden werden. Man solle daher bei negativem Ausfall die Untersuchung mehrmals wiederholen.

Die Untersuchungen sollen stets an frischem und möglichst körperwarmem Material vorgenommen werden.

3 Flagellaten (Fig 10g) Sie sind in einer härteren Hülle eingeschlossen die Oberfläche des Körpers ist mit Geißeln bedeckt. In den Faeces findet man *Cercomonas intestinalis* *Trichomonas intestinalis* und *Lambliä intestinalis*. Die Flagellaten vegetieren frei im Darminhalt oder sitzen auf der Schleimhaut und reizen sie dadurch mechanisch. Meist sind sie

Nebenbefunde bei anderen Darmerkrankungen Nach *Cohnheim* treten sie in großer Anzahl bei Achylien auf In abgekühlten Faeces findet man sie meist in einzystierter Form (Fig 8)

3 Ciliaten, *Balantidium coli* hat eine eiförmige Gestalt (Fig 11) Mundöffnung in Form eines Trichters. Die Cuticula die den ganzen Parasiten überzieht ist mit Wimpern bedeckt Der Parasit hat einen Kern und zwei Vakuolen *Balantidium coli* verursacht eine intensive und andauernde ulcerative Entzündung des Dickdarmes

Fig 11

*Balantidium coli*.

Man findet ihn in großer Anzahl in allen Schichten der Darmwand.

4 Bandwürmer (Cestodes)

Für diese Gruppe von Darmparasiten ist unter anderem charakteristisch die Differenzierung in zwei Entwicklungszustände 1 Die Finnen (Cystizerken) leben hauptsächlich im Bindegewebe der parenchymatösen Organe des Zwischenwirtes 2 der reife Bandwurm parasitiert im Dünndarm des Hauptwirtes wo er sich mittels der Saugnäpfe seines kleinen Kopfes (Skolex) fest an die Schleimhaut ansaugt Der Körper besteht aus einer langen Kette (Strobila) platter Glieder (Proglottiden) die sich durch Sprossung vermehren wobei am Kopfe immer neue Glieder entstehen während die hintersten reifen Glieder abgestoßen und mit dem Stuhle entleert werden

Die reifen Glieder enthalten zwittrige Geschlechtsorgane deren Mündungen entweder seitlich (Taenien) oder in der Mittellinie (Bothriocephalus) liegen. Die reifen Glieder enthalten Tausende von Eiern die durch die Mündungen der Geschlechtsorgane in die Faeces gelangen. Kommen diese Eier in den Darm des Zwischenwirtes (Rind, Schwein, Hecht usw.) so entwickeln sich die Embryonen die die

Fig. 12.



Taenia solium
Kopf 80fache Ver-
größerung



Fig. 13

b

*Taenia saginata.*

a Kopfende in natürlicher Größe b Kopf in 80facher Vergrößerung, c reife Proglottide

Darmwand durchbohren, und mittels des Blutstromes in die Organe des Tieres gelangen wo sie sich zu Bläschen entwickeln. Letztere vermehren sich durch Knospen. Jede Knospe (Finne) enthält die Anlage eines Skolex. Sobald die Finnen in den Darm des Hauptwirtes gelangen (durch Genuß finnenhaltigen Fleisches) wird die Blase verdaut und aus dem Skolex entwickelt sich der reife Bandwurm. Im menschlichen Darm parasitieren folgende Bandwürmer:

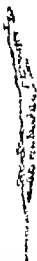
a) *Taenia solium* (Fig. 12) Ihre Finne lebt im Schwein. Der Wurm ist 2 bis 3 m lang. Der Kopf ist unpigmentiert, hat einen Hakenkranz (Rostellum) auf welchem

26 Haken in einem Doppelkreis angeordnet sind, und vier Saugnäpfe. Die abgehenden reifen Glieder (Proglottiden)

Fig.14



Fig. 15



Bothriocephalus latus.

a Kopfende in natürlicher Größe

b reife Proglottiden

Oxyuris vermicularis.

a Natürl. Größe rechts Männchen

links Weibchen, d stark vergrößert

sind ziemlich lang. Der Uterus zeigt nur sieben bis zehn Verzweigungen. Die Eier (Tafel VII Fig. 1) sind meist rund (selten oval) und von einer dicken Schale, in welcher man

deutliche radiäre Streifen sieht umgeben. Im Innern des Eies sind nicht selten die Haken des Embryos sichtbar.

b) *Taenia saginata* s. *mediocanellata* (Fig. 13) Die Finne bewohnt die Muskulatur des Rindes. Der Wurm ist 4 bis 8 m lang. Der Kopf dieser Taenie hat kein Rostellum und keinen Hakenkranz. Er trägt vier pigmentierte Saugnäpfe. Der Uterus trägt 20 bis 30 Seitenäste. Um dieselben sichtbar zu machen quetscht man die reifen Proglottiden zwischen zwei Objektträgern. Die Eier sind etwas größer als die der *Taenia solium* im übrigen aber schwer von denselben zu unterscheiden.

c) *Botriocephalus Intus* (Fig. 14) Die Finne lebt in See- und Süßwasserfischen. Der Wurm ist 6 bis 8 m lang. Der langliche Kopf mit sehr langem Hals ist abgeplattet und trägt zwei längliche Saugrinnen. Die Eier (Tafel VII Fig. 1) sind oval und haben an einem Pol einen Deckel. Beim Austreten des Embryo hebt sich dieser Deckel ab. Die reifen Glieder sind quadratisch und zeigen in der Mitte eine rosettenartige Zeichnung, welche durch den braunen mit Eiern gefüllten Uterus gebildet wird.

Zu den seltener vorkommenden Taenien gehören *Taenia nana*, *Taenia flavopunctata* und *Taenia cucumerina*. *Taenia nana* kommt häufig in Italien und Ägypten vor; in Deutschland sind nur ganz vereinzelte Fälle beschrieben. Der Wurm ist sehr kurz (5 bis 10 mm); sein kugelförmiger Kopf trägt vier Saugnäpfe und ein Rostellum, das mit einem Kranz von Haken armiert ist. Die Eier sind sehr durchsichtig und zeigen in der Mitte vier bis sechs Haken. Auch *Taenia flavopunctata* und *cucumerina* kommen in Deutschland sehr selten vor.

5 R u n d w u r m e r (Nematodes) Diese Würmer entwickeln sich direkt ohne Zwischenstadium im Darm des Menschen. Die Nematoden sind runde, schlanke Würmer ohne Gliederung. Die Geschlechter sind getrennt, und Männchen lassen sich von den Weibchen meist schon äußerlich (durch ihre Größe) unterscheiden. Der Da-

kanal durchzieht meist in gerader Linie den ganzen Körper. Die Geschlechtsorgane münden beim Männchen meist in den Endteil des Darmes. Bei den Weibchen befindet sich die Öffnung der Vulva meist in der Mitte des Bauches. Zu dieser Gruppe gehören

a) *Oxyuris vermicularis* (Fig 15) Der Wurm macht seinen Entwicklungsgang in den Faeces durch in die er durch Verschlucken seiner Eier vom Magen aus gelangt. Das Männchen ist 4 mm das Weibchen 10 mm lang. Die Eier (Tafel VII Fig 1 g) sind doppelt konturiert und meist mit einer grobkörnigen Masse gefüllt. Zuweilen findet man im Ei den Embryo in dem der Darmkanal undeutlich sichtbar ist. In den Faeces findet man häufiger die Würmer seltener die Eier. Die Würmer findet man meist auf der Oberfläche der festen Stühle.

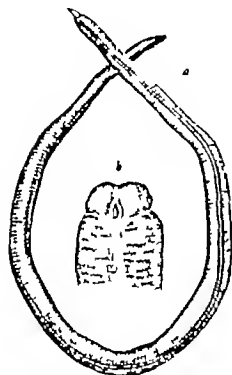
b) *Ascaris lumbricoides* (Spulwurm) (Fig 16) Ziemlich lange Würmer (20 bis 40 cm) von zylindrischer Körperform. Die Eier (Tafel VII Fig 1 e) sind rund oder oval von gelbbrauner Farbe und von einer buckelförmigen Eiweißhülle umlagert. Diese Eier können leicht mit ähnlich aussehenden Sporen von manchen Pilzarten verwechselt werden (Morcheln Brandpilze).

Die Spulwürmer vollziehen bei ihrer Entwicklung eine ziemlich komplizierte Wanderung durch den menschlichen Körper. Die mit Nahrungsmitteln (Obst Gemüse) in den Darmkanal gelangenden reifen Eier werden bald durch die Larven gesprengt. Diese bohren sich in kleine Venen der Darmwand ein und gelangen von hier durch die Pfortader in die Leber. Durch den Blutstrom werden sie in das rechte Herz und weiter in die Lungen getragen. Nach Durchbohrung der Lungencapillaren dringen sie in die Alveolen vor und werden von dort durch das Flimmerepithel der Bronchen in die Trachea und den Rachen bewegt. Mit dem Schluckakt kommen sie dann wieder abwärts in den Magendarmkanal wo sie sich jetzt festsetzen und Geschlechtsreife erlangen. Da zahlreiche Larven bei

dieser Wanderung zugrunde gehen kommen nur wenige Würmer zur geschlechtlichen Reife.

c) *Trichocephalus dispar* (Peitschenwurm) (Fig 17) wird gewöhnlich als ein harmloser Darmparasit

Fig 16



Ascaris lumbricoides.

a Männchen von natürlicher Größe,
b Kopfe, stark vergrößert.

Fig 17



Trichocephalus dispar
Männchen mit dem Vorderende in
die Darmschleimhaut eingesenkt.
(Nach Claus)

angesehen. *Metschnikoff* hat ihm eine Bedeutung beim Entstehen der Entzündung des Blinddarmfortsatzes zu gesprochen. Das ganze Tier ist zirka 4 cm lang. Die Eier (Tafel VII Fig 1 b) sind leicht an den Deckelchen, die sich an den beiden Polen befinden, erkennbar. Sie sind

doppelt konturiert bräunlich gefärbt und mit einer granulierten Masse erfüllt. Es gelingt nicht die Würmer abzutreiben, da sie sich in die Schleimhaut einbohren.

d) *Anchylostoma duodenale* (Fig. 18). In den Faeces findet man meist nur Eier, weil die Würmer selbst sich so tief und fest in die Darmwand des Dunndarms einbohren, daß sie mit dem Stuhle nicht entleert werden. Die Eier (Tafel VII Fig. 1 a) sind einfach konturiert, oval und enthalten alle Stadien der Entwicklung des Embryos nebeneinander. Das Männchen ist 10 mm lang und hat am Schwanzende zwei Spikula. Das Weibchen ist hinten zugespitzt und 12 bis 18 mm lang.

e) In heißen Ländern findet man häufig im frisch entleerten Stuhl Larven von *Anguillula intestinalis* (*Strongyloides intestinalis*). In der letzten Zeit sind diese Parasiten auch nach Europa verschleppt worden; die Larven gelangen aus den Faeces durch die Haut in den Körper und setzen sich im oberen Teil des Dünndarmes fest. Sie dringen durch die Submucosa bis zu den Chylusgefäßen, wo sie ihre Nahrung finden. Nachdem sie herangewachsen sind, dringen sie wieder in den Darm durch und werden mit dem Stuhle ausgeschieden. Sie zeigen eine große Ähnlichkeit mit den Larven der *Anchylostoma*. Zur Differenzierung dienen zwei Merkmale: 1. Die Larven der *Anguillula* kommen nur in frisch entleerten Faeces vor; 2. Die Larven

Fig. 18



a
Anchylostoma duodenale
a Natürliche Größe,
b Männchen vergrößert

der *Anchylostoma* zeigen im Anfangsteil des Darmes zwei parallel laufende stark lichtbrechende Linien, die bei der *Anguillula* fehlen

f) *Trichina spiralis*. Die reifen Darmtrichinen oder ihre Embryonen gehen mit dem Stuhle nur während der ersten Tage der Infektion ab und werden daher äußerst selten bei der Faecesuntersuchung gefunden. Die Männchen sind 14 bis 16 mm lang und 0.04 mm dick die Weibchen 3 bis 4 mm lang und 0.06 mm dick. Die Männchen sterben bald nach der Befruchtung ab die Weibchen bohren sich in die Darmschleimhaut ein. Die junge Brut (Trichinen legen keine Eier) verbreitet sich vor allem durch den Lymphstrom über den ganzen Körper und siedelt sich hauptsächlich in der Muskulatur an.

6 Saugwürmer (Trematoden) bewohnen meist die Leber oder den Darm des Menschen. Sie sind durch ihren Saugapparat so fest an die Organe gebunden, daß sie nie in den Faeces erscheinen. In den Faeces werden nur die Eier gefunden. In Deutschland ist nur eine Art von Saugwürmern endemisch, nämlich *Opisthorchis felina*, der Katzenleberegel. In Ostpreußen auf der Kurischen Nehrung ist ein Teil der Fischer mit Katzenleberegel infiziert. Der Parasit bedingt nicht unerhebliche Störungen der Leber und Bauchorgane. Sowohl der Mensch wie die Katze sind Hauptwirte. Als Zwischenwirte sind Fische, wie Plötze, Tümpel, Schleie, Rotfeder und Guster bekannt. Die Eier sind 20 bis 30 Mikren lang und 10 bis 15 Mikren breit sie sind von gelblicher Farbe. Am dem spitzen Pol findet sich darunter in Form einer granulierten Masse der zusammen gewundene Embryo.

Die Eier von *Schistosoma mansoni* (nicht identisch mit den Bilharziern — *Schistosoma haematobium* —) sind charakterisiert durch ihre Größe und Form: sie sind 110 bis 190 Mikren lang und 46 bis 75 Mikren breit. Die gelben, deckellosen Eier fallen durch die am breiten Pol seitlichliegenden Stachel, in welche sich der Hohlraum des Eies fortsetzt, auf. Meist enthält das Ei eine vollentwickelte Larve (Miracidium).

Zum schnellen Auffinden der Parasiteneier empfiehlt es sich das von *Telmann* angegebene Sedimentierungsverfahren anzuwenden. Man entnimmt aus fünf verschiedenen Stellen der Faeces erbsengroße Stückchen verreibt sie mit 5 cm³ Wasser bis zur dünnbreiigen Konsistenz versetzt die Aufschwemmung in einem Reagensglas mit einer gleichen Menge konzentrierter (10%) Salzsäure und einer doppelten Menge Äther und schüttelt so lange kräftig durch bis das Gemisch eine gleichmäßige dünn flüssige Konsistenz angenommen hat. Jetzt filtriert man

durch ein feines Drahtnetz in ein Zentrifugenglas und zentrifugiert fünf bis zehn Minuten. In dem ausgeschleuderten Sedimente finden sich die Eier zusammen mit Cellulose und Muskelresten. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Eier von *Ascaris lumbricoides* bei diesem Verfahren ihre zackige Eiweißhülle verlieren und daher schwer zu erkennen sind. Man soll aus diesem Grunde stets außer den Sedimentpräparaten auch Präparate aus den nicht sedimentierten Faeces untersuchen.

Nach *Fulleborn* kann man die Ascariden Eier folgen derweise anreichern

Man verreibt in einem etwa 200 cm³ fassenden Glas einen Teil Faeces mit 20 Teilen einer konzentrierten 20- bis 25%igen Kochsalzlösung und läßt 30 bis 45 Minuten stehen. Die Eier sammeln sich (als spezifisch leichtere Teilchen) an der Oberfläche der Flüssigkeit. Zur mikroskopischen Untersuchung entnimmt man mit einer Öse von der Oberfläche einige Tropfen.

Die qualitative chemische Untersuchung der Faeces

Reaktion Unter normalen Verhältnissen zeigen die Faeces keine bedeutenden Abweichungen von der neutralen Reaktion. Meist reagieren sie schwach alkalisch oder neutral. Eine schwach saure Reaktion tritt nur bei ausschließlicher vegetabilischer Diät hervor. Die Prüfung geschieht in bekannter Weise durch Lackmuspapier.

Man befeuchtet zwei Streifen (roten und blauen) Lackmuspapiers mit destilliertem Wasser, bringt sie mit dem Kote in Berührung und beobachtet auf der nicht beschmutzten Seite die Veränderung der Farbe. Vor der Prüfung muß der Kot durchgemischt werden, da es häufig vorkommt, daß die Faeces aus Bestandteilen von verschiedener Reaktion zusammengesetzt sind, oder daß die Kotsäule auf der Oberfläche und in den tieferen Teilen verschieden reagiert. Außerdem muß die Prüfung möglichst bald nach der Entleerung ausgeführt werden, weil nicht

selten sehr schnell Veränderungen der Reaktion eintreten. Stühle von härterer Konsistenz müssen vorher mit destilliertem Wasser verrieben werden.

Blut. Ist das Blut in unzersetztem Zustande den Faeces beigemengt so daß es makroskopisch leicht erkennbar ist so genügt zur Kontrolle der mikroskopische Nachweis der roten Blutkörperchen oder der spektroskopische Nachweis des Oxyhämoglobins. Ist aber der Blutfarbstoff schon verändert so kann er nur auf chemischem oder spektroskopischem Wege nachgewiesen werden. Dasselbe gilt auch für ganz geringe, makroskopisch nicht erkennbare Beimischungen von Blut sogenannte okkulte Blutungen. Die Feststellung dieser okkulten Blutungen ist für diagnostische Zwecke von großer Wichtigkeit da sie für die möglichst frühzeitige Erkennung von Magen oder Darmgeschwüren sowie bösartigen Geschwülsten des Magens und Darmes nicht selten von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. Es muß jedoch berücksichtigt werden daß die Diagnose der okkulten Blutungen mit manchen Schwierigkeiten verbunden ist. Erstens muß in Betracht gezogen werden daß die menschliche Nahrung gewöhnlich Blut enthält das aus den Fleisch und Fischspeisen stammt. Außerdem enthält auch die pflanzliche Kost Bestandteile, die bei den Blutreaktionen störend wirken. Diese Schwierigkeit wird in der Weise beseitigt daß vor der Prüfung der Faeces auf okkultes Blut eine strenge vier bis sechstägige Kostordnung durchgeführt wird bei der alle blut- und chlorophyllhaltigen Speisen ausgeschlossen sind (Störend bei den Blutproben wirkt nicht das Chlorophyll als solches sondern das in den meisten grünen Gemüsearten vorhandene Eisen.) Eine andere Schwierigkeit liegt in der Wahl einer empfindlichen und zuverlässigen Probe. In der klinischen Praxis werden zum Blutnachweis die sogenannten katalytischen Reaktionen angewandt. Sie beruhen darauf daß Hämoglobin und seine eisenhaltigen Derivate Sauerstoffüberträger sind. Zur Ausführung dieser Reaktionen sind daher zwei Reagenzien erforderlich 1 eine

Sauerstoff spendende Substanz 2 eine Sauerstoff aufnehmende die bei der Oxydation ihre Farbe verändert. Als Sauerstoffspender benutzt man gewöhnlich Superoxyde oder altes Terpentinöl. Von den zahlreichen katalytischen Proben und ihren Modifikationen haben sich am besten die Benzidin- und Guajacprobe bewährt.

Wir führen sie in folgender Weise aus

Die Benzidinprobe.

0,1 g Benzidin (Präparat Kahlbaum oder Merck) löst man in 10 cm³ 50%iger Essigsäure. Von dieser Lösung bringt man in ein trockenes sauberes Reagensglas etwa 2 cm³ setzt eine gleiche Menge Wasserstoffsuperoxyd (3% nach Gewicht) hinzu (das Gemisch darf sich nicht verfärben) und hierauf zwei bis drei Tropfen des mit Wasser zur Konsistenz einer Sauce verriebenen Stuhles. Man rührt leicht um. Ist Blut vorhanden so tritt eine dunkelgrüne oder blaue Färbung der Flüssigkeit ein. Da die Empfindlichkeit der Probe von der Konzentration der Reagenzien in hohem Maße abhängig ist so müssen die angegebenen Vorschriften genau eingehalten werden. Es empfiehlt sich ferner nur einwandfreie Chemikalien zu verwenden und für die Proben besonders saubere Reagensgläser zu benutzen. Das Wasserstoffsuperoxyd muß alle drei bis vier Wochen durch frisches ersetzt werden. *Gregersen* verwendet anstatt Wasserstoffsuperoxyd das besser haltbare Bariumsuperoxyd. *Boas* hat das Benzidin und Bariumsuperoxyd in Tablettenform vereinigt (zu beziehen von *Merck* Darmstadt die Gebrauchsanweisung wird beigelegt). Es ist darauf zu achten daß während der Zeit die der Untersuchung auf occultes Blut vorangeht Blut aus dem Zahnfleisch oder der Nase in den Magendarmtrakt nicht gelangt. Auch sollen Medikamente die die katalytischen Reaktionen beeinflussen können (besonders Eisen Wismut Jodpräparate) vermieden werden.

Die Guajacprobe (nach *A. Kowarski*) Mittels eines Glasstabes bringt man in ein Zentrifugenglas

selten sehr schnell Veränderungen der Reaktion eintreten. Stühle von härterer Konsistenz müssen vorher mit destilliertem Wasser verrieben werden.

Blut. Ist das Blut in unzersetztem Zustande den Faeces beigemengt so daß es makroskopisch leicht erkennbar ist so genügt zur Kontrolle der mikroskopische Nachweis der roten Blutkörperchen oder der spektroskopische Nachweis des Oxyhämoglobins. Ist aber der Blutfarbstoff schon verändert so kann er nur auf chemischem oder spektroskopischem Wege nachgewiesen werden Dasselbe gilt auch für ganz geringe makroskopisch nicht erkennbare Beimischungen von Blut sogenannte „okkulte Blutungen“. Die Feststellung dieser okkulten Blutungen ist für diagnostische Zwecke von großer Wichtigkeit da sie für die möglichst frühzeitige Erkennung von Magen oder Darmgeschwüren sowie bösartigen Geschwülsten des Magens und Darmes nicht selten von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. Es muß jedoch berücksichtigt werden daß die Diagnose der okkulten Blutungen mit manchen Schwierigkeiten verbunden ist. Erstens muß in Betracht gezogen werden daß die menschliche Nahrung gewöhnlich Blut enthält das aus den Fleisch und Fischspeisen stammt. Außerdem enthält auch die pflanzliche Kost Bestandteile die bei den Blutreaktionen störend wirken. Diese Schwierigkeit wird in der Weise beseitigt daß vor der Prüfung der Faeces auf okkultes Blut eine strenge vier bis sechstägige Kostordnung durchgeführt wird bei der alle blut- und chlorophyllhaltigen Speisen ausgeschlossen sind. (Störend bei den Blutproben wirkt nicht das Chlorophyll als solches sondern das in den meisten grünen Gemüsearten vorhandene Eisen.) Eine andere Schwierigkeit liegt in der Wahl einer empfindlichen und zuverlässigen Probe. In der klinischen Praxis werden zum Blutnachweis die sogenannten „katalytischen Reaktionen“ angewandt. Sie beruhen darauf daß Hämoglobin und seine eisenhaltigen Derivate Sauerstoffüberträger sind. Zur Ausführung dieser Reaktionen sind daher zwei Reagenzien erforderlich 1 eine

Blutungen brauchbarer ist der spektroskopische Blutnachweis nach Snapper

Die Probe beruht darauf, daß von allen Blutfarbstoffderivaten das Hamochromogen spektroskopisch in der größten Verdünnung wiederzufinden ist; besonders gilt das für die Verbindung des Hamochromogens mit Pyridin. Das Spektrum des Hamochromogens zeigt zwei Streifen, von denen der erste auf der Grenze von Grün und Gelb liegt; der zweite schwächere Streifen kann bei der Faecesuntersuchung vernachlässigt werden.

Ausführung Einige Gramm Faeces werden im Mörser mit einem Überschuß von Aceton verrieben. Man filtriert und wäscht das Filter mit Aceton nach. Der Filterrückstand wird mit dem Pistill tüchtig ausgepreßt. Dann wird die trockene körnige Substanz von dem Filter in einen neuen Mörser gebracht und mit einem Gemisch von 1 Teil Kalilauge (50%) 1 Teil Pyridin und 25 Teilen Alkohol verrieben. Man benutzt so wenig wie möglich Flüssigkeit, damit der Extrakt sehr konzentriert wird. Zu einigen Kubikzentimetern Extrakt werden vier bis fünf Tropfen Schwefelammon zugesetzt. Diese Flüssigkeit wird vor dem Spektroskop geprüft. Anstatt Schwefelammon kann man reines Phenylhydrazin oder 50% Hydrazinhydrat zu setzen. Der Spalt des Spektroskops muß möglichst verengt werden. Es empfiehlt sich, das Spektroskop in einem Dunkelmzimmer aufzustellen. Die Methode ist sicher und steht an Empfindlichkeit der Guajacprobe nicht nach.

Die Probe kann wesentlich vereinfacht werden. Das Auswaschen mit Aceton und Auspressen mit Filterpapier geschieht in gleicher Weise wie bei der Guajacprobe. Hierauf fügt man 2 bis 3 cm^3 des Pyridingemisches zu, verreibt gut mit einem Glasstab, zentrifugiert etwa eine Minute, gießt die Flüssigkeit in ein Reagensglas ab, setzt einen Tropfen Phenylhydrazin zu und spektroskopiert.

Es empfiehlt sich, vor der Anstellung der Blutproben den Stuhl auf Vorhandensein von Muskelresten mikroskopisch zu prüfen.

Der negative Ausfall der Benzidinprobe bei fleisch- und farbstofffreiem Stuhl wird gewöhnlich als Beweis der

ein bohnengroßes Stück Faeces etwa 2 g (von flüssigem Stühle nimmt man etwa 3 cm^3) man verreibt den Stuhl mit einem Glasstab sorgfältig unter allmählichem Zusatz mit etwa 8 bis 10 cm^3 Aceton und zentrifugiert. Das Aceton extrahiert aus Faeces den größten Teil des Fettes und der Farbstoffe. Bei fett oder farbstoffreichen Stühlen wird diese Extraktion mit Aceton mehrmals wiederholt. Das Aceton wird abgegossen und der Bodensatz wird mittels eines mit Fließpapier umwickelten Glasstabes gut ausgepreßt um die Faeces möglichst zu entwässern. Hierauf setzt man fünf Tropfen Eisessig und ebensoviel gesättigter Kochsalzlösung hinzu verreibt sorgfältig mit dem Glasstabe setzt etwa 3 bis 4 cm^3 Äther hinzu und verreibt wieder sehr energisch. Die Ätherschicht scheidet sich gewöhnlich sehr schnell ab. Sollte es nicht der Fall sein so wird schnell abzentrifugiert (nur 20 bis 40 Sekunden) Mangießt die Ätherschicht in ein Reagensglas setzt zwei bis drei Tropfen frischer Guajactinktur von gelber Farbe und etwa 1 cm^3 Wasserstoffsuperoxyd hinzu. Es tritt eine rotviolette bis blaue Färbung ein. Bei sehr geringem Blutgehalt zeigt sich die Färbung erst nach einer halben bis einer ganzen Minute. Bei reichlichem Blutgehalt (intensive Färbung des Extraktes) muß man mehr Guajactinktur zusetzen. Die Empfindlichkeit dieser Probe ist die gleiche wie bei der Schummschen Modifikation. Sie ist vielleicht noch etwas empfindlicher.

Die spektroskopische Untersuchung kann mit dem sauren Ätherextrakt der bei der Guajacprobe gewonnen wird ausgeführt werden. Diese Untersuchung ergibt ein positives Resultat nur bei größerem Blutgehalt des Stuhles. Der Extrakt zeigt dann eine deutliche braunrote Färbung. Man findet dabei die charakteristischen vier Absorptionsstreifen des Hämatins in saurer Lösung 1 im Rot 2 im Gelb 3 auf der Grenze zwischen Gelb und Grün 4 auf der Grenze zwischen Grün und Blau. Deutlich tritt meist nur der erste Streifen (im Rot) hervor. Viel empfindlicher und für die Diagnose von okkulten

Blutungen brauchbarer ist der spektroskopische Blutnachweis nach *Snapper*

Die Probe beruht darauf, daß von allen Blutfarbstoffderivaten das Hamochromogen spektroskopisch in der größten Verdünnung wiederzufinden ist; besonders gilt das für die Verbindung des Hamochromogens mit Pyridin. Das Spektrum des Hamochromogens zeigt zwei Streifen, von denen der erste auf der Grenze von Grün und Gelb liegt; der zweite schwächere Streifen kann bei der Faecesuntersuchung vernachlässigt werden.

Ausführung Einige Gramm Faeces werden im Mörser mit einem Überschuß von Aceton verrieben. Man filtriert und wäscht das Filter mit Aceton nach. Der Filterrückstand wird mit dem Pistill tüchtig ausgepreßt. Dann wird die trockene körnige Substanz von dem Filter in einen neuen Mörser gebracht und mit einem Gemisch von 1 Teil Kalilauge (50%) 1 Teil Pyridin und 2,5 Teilen Alkohol verrieben. Man benutzt so wenig wie möglich Flüssigkeit, damit der Extrakt sehr konzentriert wird. Zu einigen Kubikzentimetern Extrakt werden vier bis fünf Tropfen Schwefelammon zugesetzt. Diese Flüssigkeit wird vor dem Spektroskop geprüft. Anstatt Schwefelammon kann man reines Phenylhydrazin oder 50% Hydrazinhydrat zu setzen. Der Spalt des Spektroskops muß möglichst verengt werden. Es empfiehlt sich, das Spektroskop in einem Dunkelmzimmer aufzustellen. Die Methode ist sicher und steht an Empfindlichkeit der Guajacprobe nicht nach.

Die Probe kann wesentlich vereinfacht werden. Das Auswaschen mit Aceton und Auspressen mit Fießpapier geschieht in gleicher Weise wie bei der Guajacprobe. Hierauf fügt man 2 bis 3 cm³ des Pyridingemisches zu, verreibt gut mit einem Glasstab, zentrifugiert etwa eine Minute, gießt die Flüssigkeit in ein Reagensglas ab, setzt einen Tropfen Phenylhydrazin zu und spektroskopiert.

Es empfiehlt sich, vor der Anstellung der Blutproben den Stuhl auf Vorhandensein von Muskelresten mikroskopisch zu prüfen.

Der negative Ausfall der Benzidinprobe bei fleisch- und farbstofffreiem Stuhl wird gewöhnlich als Beweis der

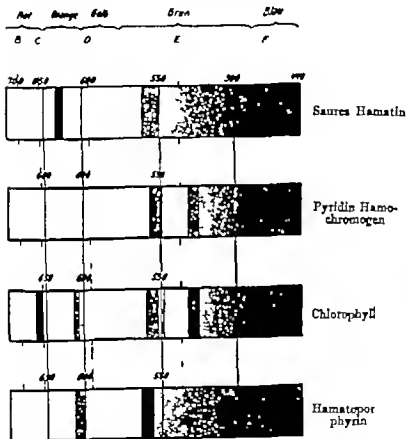
Blutabwesenheit gedeutet. Bei positivem Ausfall dieser Probe wird auch die Guajacprobe angesetzt, ergibt sie ein negatives Resultat so kann es sich höchstens um minimale Spuren von Blut handeln, bei positivem Ausfall ist eine okkulte Blutung vorhanden. Der spektroskopische Nachweis nach *Snapper* ist sehr exakt und empfindlich und ist als die sicherste Blutprobe für klinische Zwecke sehr zu empfehlen. Nach *Snapper* kann die spektroskopische Methode in manchen Fällen eine okkulte Blutung auch dann feststellen wenn die anderen Methoden vollständig versagen nämlich bei der weiteren Zersetzung des Hämatins in Porphyrine letztere reagieren nicht auf Benzidin und Guajac, lassen sich jedoch spektroskopisch nachweisen.

Für den gleichzeitigen Nachweis von Hämatin und Porphyrinen empfiehlt *Snapper* folgende einfache Probe

Der Stuhl wird im Mörser mit einem Überschuß von Aceton verrieben. Man filtriert und preßt den Filterrückstand mit dem Pistill aus. Die trockene Substanz wird in den Mörser zurückgebracht und mit einem Gemisch aus 1 Teil Eisessig und 3 Teilen Acetylacetat (Essigäther) verrieben. Nach Filtration wird zu einem Teil des Filtrates ein viertel Teil Pyridin und zwei Tropfen Schwefelammon zugesetzt. Bei Anwesenheit von Hämochromogen entsteht das charakteristische Spektrum mit dem Band auf der Grenze von Gelb und Grün. Ein anderer Teil des Filtrates wird zunächst ohne Zusatz von Reagenzien spektroskopiert. Es ist möglich daß man im Filtrat ein Spektrum des sauren Hämatins des Chlorophylls oder des Porphyrins sieht. Setzt man zu der Flüssigkeit einen viertel Teil 10%ige Salzsäure und eine kleine Menge Äther hinzu so bilden sich nach Schütteln zwei Schichten. In der oberen ätherischen Schicht kann man das Chlorophyll und Hämatinspektrum nachweisen in der unteren Salzsäureschicht das zweibandige saure Porphyrinspektrum (vgl. Fig. 19). *Snapper* fand daß beim Magen und Darmcarcinom nicht selten das aus dem Tumor stammende Blut

restlos in Porphyrin sich umwandelt. In diesen Fällen sind die katalytischen Reaktionen negativ während die Probe auf Porphyrin positiv ausfällt. Man soll daher

Fig 19



bei Verdacht auf Carcinom wenn die katalytischen Proben negativ ausfallen stets auf Porphyrine untersuchen.

Gallenbestandteile

a) Gallenfarbstoffe. Unter normalen Verhältnissen enthält der Stuhl des Erwachsenen keine unveränderten Gallenfarbstoffe Biliverdin oder Biliverdin.

Die Farbe der normalen Faeces ist hauptsächlich durch das reduzierte Biliburin d. h. Urobilin bedingt.

Das Urobilin wird nach *Schmidt* in folgender Weise nachgewiesen. Frische Faeces (ein haselnußgroßes Stück) werden im Morser mit konzentrierter wässriger Sublimatlösung fein verrieben und mehrere Stunden in einem weiten Schälchen stehen gelassen. Alle urobilinhaltigen Teilchen der Faeces färben sich dabei intensiv rot (Bildung von Quecksilberurobin) während die unverändertes Bilirubin enthaltenden Teile eine grüne Färbung zeigen. Diese Probe dient also gleichzeitig zum Nachweis des unveränderten Gallenfarbstoffes.

Nach *Schlessinger* wird Urobilin in den Faeces ebenso wie im Urin mittels alkoholischer Zinkacetatlösung nachgewiesen. Die Reaktion wird am bequemsten mit dem sauren Ätherextrakt*) ausgeführt. Mit demselben Extrakt kann auch die Ehrlichsche Aldehydreaktion auf Urobilinogen angesetzt werden (siehe Harnuntersuchung).

Nach *Charnass* und *Salomon* hat die Urobilinogenscheidung im Stuhle einen diagnostischen Wert, und zwar für die Differentialdiagnose zwischen Ulcus, Carcinom und perniziöser Anämie. Bei letzterer ist der Urobilinogengehalt stark vermehrt, bei Carcinom dagegen bedeutend vermindert, bis zum Fehlen. Bei Ulcus ist der Urobilinogengehalt entweder normal oder leicht vermehrt. Für den Nachweis und die quantitative Schätzung desselben wird folgende Methode angegeben:

Die Tagesmenge des Stuhles von nach Möglichkeit normaler Konsistenz, in der Kälte und unter Lichtabschluß aufbewahrt, wird gut umgerührt, etwa 10 g werden mit etwa 1 cm³ Eisessig verrührt, dann mit Alkohol unter Zusatz von Äther extrahiert, so daß die Faeces in einen feinkörnigen Brei zerfallen. Man filtriert, wobei das Filtrat etwa drei viertel Reagenzglas ausmachen soll. Die Hälfte dieser Menge also etwa 6 bis 7 cm³ werden tropfenweise unter Umschütteln mit etwa 10 bis 15 Tropfen Reagens (aus 8-0 g Dimethylparaoxybenzaldehyd in 100 cm³ rauchender Salzsäure [spezifisches Gewicht 1.19] versetzt. Man gießt nun die rote Flüssigkeit in einen 200-cm³ Zylinder und beurteilt durch Vergleich mit normalen Faeces die Intensität der Reaktion. Als Anhaltspunkt diene, daß normale Faeces eine Verdünnung mit Wasser bis 200 cm³ zulassen, wobei die Farbenintensität einer solchen der üblichen Methyloxyangelösungen ähnlich erscheint. Bei Vermehrung können zwei bis drei Zylinder bis zu dieser Intensität angefüllt werden, bei großer Verminderung sieht man die violette Farbe oft schon in dem Reagenzglas kaum mehr. Stühle nach antiseptischen Medikamenten, gärende und diarrhoische Stühle sowie stark chlorophyllhaltige sind für diese Methode nicht verwertbar.

*) Cf. Guajacprobe

b) **Gallensäuren** In der Norm werden die Gallensäuren aus den Faeces in dem oberen Teile des Darmkanals resorbiert so daß ihr Erscheinen in den Stühlen als pathologisch betrachtet werden muß. Zum Nachweis der Gallensäuren extrahiert man eine kleine Menge Faeces mit Alkohol und filtriert. das Filtrat wird zum Verjagen des Alkohols abdestilliert und der Rückstand mit durch Soda schwach alkalisch gemachtem Wasser aufgenommen. Mit der wässrigen Lösung wird die *Pettenkofer'sche* Reaktion ausgeführt d. h. man versetzt die Lösung mit etwas Rohrzucker und einigen Tropfen Schwefelsäure bei Gegenwart von Gallensäuren erhält man eine rote Färbung.

Fermentnachweis Trypsin wird am einfachsten mittels der Plattenmethode von *Müller* nachgewiesen. Man verreibt eine kleine Menge Faeces mit physiologischer Kochsalzlösung oder Wasser zu einem dünnen Brei der dann in Form kleiner Tropfen auf einer Blutserumplatte aufgetragen und bei 55 bis 60° C 24 Stunden gehalten wird. Ist Trypsin vorhanden so entsteht Dellenbildung.

Die quantitative Bestimmung des Trypsins in den Faeces wird am einfachsten mittels der Methode von *Gross-Goldschmidt* ausgeführt. 1 Man bereitet sich zunächst eine 1%-ige Caseinlösung 10 g Caseinum purissimum (*Merck*) 10 g Na_2CO_3 und 1000 cm^3 Aqua chloroformisata bringt man in einen Literkolben und läßt 24 Stunden stehen dann schüttelt man vorsichtig mehrmals um und die Lösung ist gebrauchsfertig. 2 Man verreibt 50 g Faeces mit 450 cm^3 einer 1%-igen Na_2CO_3 Lösung filtriert die erste trübe Portion des Filtrates gießt man fort die zweite klare ist brauchbar. 3 Man gießt in sechs Reagensgläser je 10 cm^3 der Caseinlösung und setzt nacheinander zu jedem Glas steigende Mengen des Kotfiltrates zu (0.1 0.2 0.25 0.33 0.5 1.0 cm^3) mischt gut durch bezeichnet die einzelnen Gläser und stellt sie auf 24 Stunden in den Brutschrank. 4 Nach dieser Zeit setzt man zu den Gläsern drei Tropfen einer 10%-igen Essigsäure zu. Die Gläser in denen Casein verdaut ist bleiben

klar die anderen zeigen eine milchige Trübung Als eine Trypsineinheit bezeichnet man diejenige Menge Ferment, welche 10 cm^3 der Stammcas einlösung verdaut*) Der spontan entleerte normale Stuhl enthält gewöhnlich 30 Einheiten (die Röhrrchen mit 10 0·5 und 0·33 bleiben klar) Eine Pankreaserkrankung liegt dann vor wenn entweder gar kein Trypsin oder höchstens zehn Einheiten (nur das Röhrrchen mit 10 bleibt klar) gefunden werden.

Amylase (Diastase) läßt sich am bequemsten nach der Methode von *Holgemuth* feststellen Man verreibt die Faeces mit einer zehnfachen Menge Wasser filtriert und bringt vom Filtrat in zehn Reagensgläser fallende Mengen In das erste Reagensglas füllt man 2 cm^3 des Filtrates in alle übrigen je 10 cm^3 dest. Wassers. Hierauf bringt man aus dem ersten Glas in das zweite 1 cm^3 rührt um aus dem zweiten 1 cm^3 in das dritte usw. aus dem letzten wird 1 cm^3 weggegossen. In jedes Reagensglas kommen noch 50 cm^3 einer 1%igen Stärkelösung (lösliche Stärke von *Kahlbaum*) und einige Tropfen Toluol. Die Röhrrchen werden zugekorkt geschüttelt und auf 24 Stunden in den Brutschrank (37°) gebracht. Nachher füllt man sämtliche Gläser bis einen Finger breit vom Rande mit Wasser auf setzt zu jedem einen Tropfen 0·1 n Jodlösung zu und schüttelt um. Als unterste Grenze der Wirksamkeit ist dasjenige Gläschen zu betrachten in dem die blaue Farbe noch vorhanden ist. Die Berechnung wird so durchgeführt daß man bestimmt wieviel Kubikzentimeter 1%ige Stärkelösung innerhalb 24 Stunden von 10 cm^3 des Faecesextraktes vollkommen in Dextrin umgewandelt wird Ist z. B. das fünfte Röhrrchen noch blau so sind vier Röhrrchen verdaut Das vierte Röhrrchen entspricht einer achtfachen Verdünnung des Extraktes d. h. $\frac{1}{8}$ cm^3 Es sind 5 cm^3 Stärke in Dextrin umgewandelt 1 cm^3 Extrakt wurde also $5 \times 8 = 40 \text{ cm}^3$ Stärke = 40 Einheiten entsprechen Der Diastasegehalt im normalen Stuhle schwankt zwischen 100 und 845 Einheiten. *Bottoms* be-

*) Man berechnet, wieviel Einheiten 1·0 cm^3 Faecesfiltrat enthält.

rechnet den Diastasegehalt der einem Gramm festen Stuhles entspricht und findet in der Norm bei einer Tagesmenge von 200 bis 300 g 160 bis 200 Diastaseeinheiten in 1 g Faeces

Quantitative chemische Untersuchung der Faeces.

Bestimmung der Trockensubstanz.

Eine abgewogene Probe des Kotes wird zunächst durch Eindampfen auf dem Wasserbade lufttrocken gemacht. Es empfiehlt sich, neutral oder alkalisch reagierende Faeces vor dem Eindampfen mit einer geringen Menge verdünnter Schwefelsäure anzusäuern, um keine Verluste durch Verflüchtigung von Ammoniak zu erleiden, die bei späteren Stickstoffbestimmungen sehr in Betracht kommen können. Der lufttrockene Kot ist noch nicht wasserfrei und muß daher noch bei höherer Temperatur bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Die lufttrockenen Faeces werden jetzt in einem Mörser sorgfältig zerpulvert. Diese Prozedur gelingt aber bei fettreichen Stühlen schlecht, und es empfiehlt sich daher bei makroskopisch erkennbarem großem Fettgehalt des Stuhles ihn auf einer gewogenen Menge geblühten Sandes einzudampfen. Ist dies versäumt, so verreibt man den lufttrockenen Kot mit einer etwa zehnfachen Menge geblühten Sandes. Nicht fettreiche Stühle werden im Lufttrockenschrank bei 105° getrocknet, während fettreiche bei 98 bis 99° im Wasser trockenschrank circa 30 bis 40 Stunden bleiben müssen. Das Fett darf höheren Temperaturen nicht ausgesetzt werden, weil es dabei schmilzt und auf der feuchten Masse eine Decke bildet, die das weitere Trocknen hindert. Geschieht das Trocknen im Luftschrank, so wird alle drei Stunden gewogen, bis eine Gewichtskonstanz erreicht ist. Beim Trocknen im Wasser trockenschrank wird erst nach 24 bis 30 Stunden und dann alle sechs Stunden gewogen. Bei gemischter Kost beträgt die Trockensubstanz circa 25% des Kotes. Bei rein vegetabilischer Nahrung ist die Trockensubstanz bedeutend geringer (10 bis 15%).

Bestimmung des gesamten Stickstoffes.

Der Stickstoffgehalt der Faeces wird gewöhnlich nach der Methode von *Kjeldahl* bestimmt.

Die Ausführung geschieht in folgender Weise: 1 bis 1,5 g genau abgewogener unter Zusatz von verdünnter Schwefelsäure getrockneter Faeces werden in einem Kjeldahlkolben mit 20 ccm³ Kjeldahlschwefelsäure und einem Tropfen Quecksilber versetzt und sechs bis zwölf Stunden stehen gelassen. Alsdann wird der Kolben auf einem Sandbade unter dem Abzug solange erhitzt, bis die Flüssigkeit farblos ist oder eine ganz schwachweingelbe Farbe zeigt. Im übrigen wird die Bestimmung wie bei der Stickstoffbestimmung im Harn ausgeführt, mit dem Unterschiede, daß beim Abdestillieren des Ammoniak in den Destillierkolben ein Kristall Natriumthiosulfat gebracht wird.

Bestimmung des Fettgehaltes.

Das Fett der Faeces besteht aus einem Gemisch von Ölsäure, Palmitin und Stearinsäure, ihren Salzen (Seifen) und Glycerinestern

(Neutralfette) Die quantitativen Verhältnisse dieser Komponenten der Fette untereinander unterliegen bedeutenden Schwankungen und sind in erster Linie von der Art des Nahrungsfettes abhängig. Für klinische Zwecke ist hauptsächlich die Bestimmung des Gesamtfettgehaltes von Bedeutung. Die getrennte Bestimmung der Neutralfette, Fettsäuren und Seifen wird nur für spezielle Untersuchungen vorgenommen, während die getrennte Bestimmung der Ölsäure, Stearin- oder Palmitinsäure gar keine praktische Bedeutung hat.

Bestimmung des Gesamtfettgehaltes der Faeces.

Die einfachste Methode ist die Ätherextraktion. In Äther sind aber nur die Neutralfette und die freien Fettsäuren löslich, die Seifen müssen daher vor der Extraktion gespalten werden.

3 bis 4 g der genau abgewogenen, getrockneten und gut gepulverten Faeces werden in einem Porzellanschälchen mit einer geringen Menge 1%igem salzsaurem Alkohol auf dem Wasserbade bis zur Trockne erwärmt, wobei die Seifen zerlegt werden. Der Trockenrückstand wird vollständig in die Hülse des Soxhletapparates gebracht (die Schale wird mit Filterpapierstückchen sorgfältig ausgewischt, und die letzteren werden ebenfalls in die Hülse gebracht). Die Extraktion wird 12 bis 24 Stunden fortgesetzt. Nach beendeter Extraktion verdampft man den Äther, vertreibt die letzten Ätherreste durch einen Luftstrom, trocknet einige Stunden bei 80° oder kurze Zeit bei 105° und wägt den trockenen Rückstand.

Der Nachteil dieser Methode besteht darin, daß zusammen mit den Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen auch andere ätherlösliche Körper wie Cholesterin, Lecithin, Cholsäure und Farbstoffe bestimmt werden. Die Menge dieser Substanzen im Ätherextrakt ist allerdings verhältnismäßig gering, so daß sie für die gewöhnliche klinische Schätzung des Fettgehaltes vernachlässigt werden kann.

Bestimmung der Kohlenhydrate.

Die Gärungsproben nach Schmidt

Diese Probe ermöglicht den Nachweis und die annähernde quantitative Bestimmung der den Verdauungssäften leicht zugänglichen Kohlenhydrate und ist daher als eine Methode zur Bestimmung der Leistung des Verdauungsapparates zu empfehlen, um so mehr als ihre Ausführung sich sehr einfach gestaltet.

Das Prinzip der Methode beruht darauf, daß die gelösten Kohlenhydrate sowie die freiliegende und leicht angreifbare (in dünne Cellulosehüllen eingeschlossene) Stärke durch die im Kot stets vorhandene Diastase invertiert und

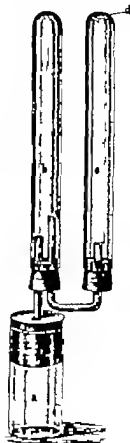
dann durch Darmbakterien unter Gasentwicklung vergoren werden. Die Probe wird folgenderweise ausgeführt

5 g Faeces werden in das Gefäß *a* des *Schmidt'schen* Gärungsapparates (Fig 20) gebracht mit Wasser gut verührt und das Gefäß mit dem Gummipfropfen unter Vermeidung von Luftblasen geschlossen. Das Röhrchen *b* wird ebenfalls mit Wasser ohne Luftblasen gefüllt und mit dem kleineren Gummipfropfen verschlossen. Der ganze Apparat wird für 24 Stunden in den Brutschrank (37° C) gestellt. Das bei der Gärung sich entwickelnde Gas wird einen Teil des Wassers aus dem Röhrchen *b* in das Röhrchen *c* vertreiben. Die Luft aus dem Röhrchen *c* entweicht durch die Öffnung *d*. Nach der Höhe des Wasserstandes im Röhrchen *c* wird die Menge des ausgeschiedenen Gases bzw die Menge der vergärbaren Kohlenhydrate beurteilt.

Für diagnostische Zwecke ist nur der positive Ausfall der Probe verwertbar da unter pathologischen Verhältnissen die Probe auch bei Anwesenheit von Zucker und Stärke negativ ausfallen kann.

Nach *Schmidt* kann ein Gärungskatarrh diagnostiziert werden wenn bei der von ihm angegebenen Probediät in 24 Stunden sich so viel Gas bildet daß das Röhrchen *c* mindestens bis zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist und die Reaktion der Faeces eine deutlich saure geworden ist. Ist die Reaktion alkalisch, so handelt es sich um Eiweißfäulnis

Fig 20



Die chemische Untersuchung der Gallensteine.

Da die Gallensteine und Gallenkonkremente hauptsächlich aus Cholesterin und Kalkverbindungen der Gallenfarbstoffe bestehen so müssen in den Fällen in welchen die Natur des Steines unbekannt ist zu seiner Identifizierung als Gallenstein diese Hauptbestandteile chemisch nachgewiesen werden. Es wird zu diesem Zwecke folgender Weise verfahren:

Der Stein wird gepulvert und mit Wasser ausgekocht. Dadurch werden die eventuell vorhandenen Spuren von Gallensäure entfernt (Bei knapper Menge des zu untersuchenden Materials kann das Aufkochen mit Wasser unterbleiben). Der Rückstand wird alsdann mit einer warmen Mischung von Alkohol und Äther zu gleichen Teilen extrahiert. In Lösung geht Cholesterin, der Rückstand (1) enthält die an Calcium gebundenen Gallenfarbstoffe und die in Wasser unlöslichen anorganischen Salze. Zum Nachweis des Cholesterins zentrifugiert man die alkoholisch-ätherische Lösung vom Rückstand ab. Einen Tropfen davon läßt man langsam verdunsten, indem man ihn auf einen Objektträger bringt und schnell mit einem Deckglas zudeckt. bei Anwesenheit von Cholesterin scheidet es sich in Form von großen, sehr dünnen, charakteristisch gelagerten farblosen rhombischen Tafeln aus, die sich zunächst am Rande des Präparates zeigen.

Zur Identifizierung des Cholesterins werden folgende Reaktionen benutzt: 1. Man läßt auf dem Objektträger konzentrierte Schwefelsäure zum Cholesterin einfließen. Die Kristalle schmelzen dabei von ihren Rändern aus und färben sich karminrot. setzt man dann eine *Lugolsche* Jodjodkaliumlösung zu, so entstehen blaue, rote, grüne und violette Färbungen. Diese Reaktion gelingt nur wenn das Material vorher auf dem Objektträger gut ausgetrocknet war.

2. Man lost eine ganz geringe Menge vollkommen trockenen Cholesterins in Eisessig und gibt einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu. Es entsteht eine Violettfärbung, die sehr schnell in Tiefgrün übergeht.

Zum Nachweis des Bilirubins wird der Rückstand (Zentrifugat) (1) mit wenig verdünnter Natronlauge übergossen und abzentrifugiert. Der Gallenfarbstoff geht in Lösung, die Flüssigkeit wird abgossen und auf Bilirubin

mittels der Romm'schen Probe geprüft der Bodensatz besteht aus Kalksalzen die Anwesenheit von Kohlensaurem Kalk kann durch Zusatz von Salzsäure bestätigt werden (Aufbrausen)

Kotsteine Darmsteine und Pankreassteine

Als **Kotsteine** oder **Koprolithen** bezeichnet man steinartige Gebilde, die aus eingedickten **Kotmassen** zusammengesetzt sind. Sie bilden sich meist an solchen Stellen des Dickdarmes an welchen eine Stauung der **Kotmassen** am leichtesten stattfindet z B an den Flexuren oder in dem Processus vermiformis. Die **Koprolithen** können eine so enorme Größe und Festigkeit erlangen daß sie einen vollkommenen Darmverschluß verursachen. Die echten **Darmsteine** (**Enterolithen**) sind viel kleiner als die **Kotsteine** und zeigen nach ihrer ganzen Beschaffenheit mehr Ähnlichkeit mit den anderen Arten von Steinen (**Harn Gallensteinen**). Sie bestehen zumeist aus einem organischen Kern (denselben bilden Fruchtkerne Blutgerinnsel Kotballen usw.) auf welchem sich Schichten von Salzen — meist **Erdphosphate** oder **Triphosphate** — abgelagert haben.

Man unterscheidet folgende Formen von **Enterolithen**

1 **Typische Darmsteine**. Sie sind rund schwer steinhart konzentrisch geschichtet und enthalten im Innern einen Fremdkörper der den Kern des Konkrementes bildet

2 **Leichtere Steine** die hauptsächlich aus unverdaulichen pflanzlichen Speiseresten bestehen und mit phosphorsauren Salzen inkrustiert sind. Sie zeigen keinen deutlichen Kern und keine Schichtung. Hierher gehören die sogenannten **Hafersteine** die sich nach reichlichem und dauerndem Genuß von Hafer bilden können

3 Steine die sich aus eingenommenen Arzneisubstanzen bilden. Solche Steine bestehen meist aus unlöslichen oder sehr schwer löslichen Arzneistoffen die in Pulverform eingenommen werden z B Salol Magnesia kohlensaurem Kalk usw

4. Darmgrieß Er besteht aus kleinen harten Körnchen die sich meist aus einer organischen Masse, kohlensaurem Kalk und phosphorsaurer Ammoniak *magnesia* zusammensetzen Nicht selten besteht der Darmgrieß nur aus Steinzellen.

Die Pankreassteine sind überaus selten in den Faeces zu finden Sie sind sehr bröcklig und haben eine rauhe Oberfläche. Sie bestehen aus kohlensaurem und phosphorsaurem Kalk Cholesterin und Gallenpigmente waren in den einzelnen in der Literatur beschriebenen Fällen nachweisbar

Zur Untersuchung durchsägt man die Konkreme und prüft ein Teilchen des zerpulverten Steines durch Glühen auf dem Platinblech Verbrennt dabei der größte Teil des Pulvers so besteht die Hauptmasse des Konkrementes aus organischen Substanzen In solchen Fällen wird die mikroskopische Untersuchung in der größten Zahl der Fälle eine Aufklärung über die Zusammensetzung des Konkrementes geben

Wenn sich dagegen beim Verbrennen der Stein nur schwärzt und einen bedeutenden Rückstand hinterläßt, so besteht er hauptsächlich aus anorganischen Substanzen. Die qualitative Analyse dieser Substanzen wird wie folgt ausgeführt Eine Probe des gepulverten Steines wird in Reagensglas mit verdünnter Salzsäure versetzt und leicht erhitzt. Entsteht beim Zusatz von Salzsäure eine Gasentwicklung so sind kohlensaure Salze vorhanden. Der in Salzsäure unlösliche Rest besteht meist aus Sand oder aus organischen Massen Zur Orientierung wird der Rückstand mikroskopisch untersucht Die salzsaure Lösung wird

vom Rückstand abfiltriert oder abzentrifugiert. Die Flüssigkeit kann enthalten Phosphorsaure Salze (von Kalk Magnesia) oxalsauren Kalk Ammoniak und Spuren von Eiweißsubstanzen. Der Nachweis dieser Bestandteile geschieht nach denselben Regeln wie bei der Untersuchung der Harnsteine (vgl. daselbst).

Bakteriologische Untersuchung der Faeces

Die Faeces besitzen normalerweise eine uppige Bakterienflora, von deren Formenreichtum das Gram Präparat ein deutliches Bild gibt. Man sieht grampositive und gramnegative Stäbchen, verschiedene Kokkenarten, Spirillen Sarcinen, Schimmelpilze und Hefezellen. Bei Züchtungsversuchen unter aeroben Bedingungen kommt nur ein verschwindend kleiner Teil dieser Mikroorganismen (etwa 10%) zur Entwicklung. Auf den üblichen Nährböden wachsen in ganz überwiegender Menge Colibakterien bei vorwiegender Milchnahrung *B. lactis aerogenes*, außerdem entwickeln sich häufig *Subtilis*- und *Proteus*arten, *B. faecalis alcaligenes* und *B. fluorescentes*, Staphylo- und Streptokokken. In anaeroben Kulturen aus den Faeces wachsen besonders Bakterien aus der Gruppe der Buttersäurebakterien und der peptonisierenden Bakterien von *Flagge*.

Die wichtigsten in den Faeces nachweisbaren Krankheitserreger sind Typhus- Paratyphus- Enteritis-Cholera- Dysenterie- und Tuberkelbacillen. Seltener sind Strepto- und Staphylokokken, Milzbrand- Pestbacillen und *Bac. pyocyaneus*.

Typhusbacillen

Die Typhusbacillen gehören zu der in den letzten Jahren aufgestellten *Salmonella* Gruppe. Diese Gruppe umfaßt zahlreiche (14) Typen, die durch morphologische, kulturelle, tunkturelle, serologische und pathogene Eigenschaften ausgezeichnet sind.

Die *Salmonellabacillen* sind gramnegative, sporen- und kapsellose, meist bewegliche Bacillen, die auf den üblichen Nährböden wachsen, die stets Dextrose mit oder ohne Gasbildung spalten, die dagegen Adonit, Laktose, Saccharose nicht angreifen, die Gelatine nicht verflüssigen, die kein Indol bilden und Antigene der *Salmonellagruppe* (O und H) enthalten. Außer Typhus- und Paratyphusbacillen umfaßt diese Gruppe auch die Enteritidbacillen, Nahrungsmittelvergifter sowie verschiedene tierpathogene Bakterien. (Ausführlich bei *F. A. J. m. n.* Ergebnisse der Hygiene Bd. 15 S. 219.)

Die Typhusbacillen sind kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden, sie bilden weder Sporen noch Kapseln, färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und ent-

färben sich nach *Gram*. Im hängenden Tropfen zeigen sie auf geeigneten Nährböden gezüchtet lebhafteste Beweglichkeit. Frisch aus dem Körper gezüchtet sind sie mitunter nur schwach beweglich. Sie wachsen gut auf allen gebräuchlichen Nährböden von schwach alkalischer Reaktion am besten bei Körpertemperatur. Auf Agar bilden sie kleine feuchte grauweiße bei durchfallendem Licht bläulich insierende Kolonien. Auf Gelatine erscheinen die Kolonien meist zart insierend zackig oder wellig begrenzt im Innern von zahlreichen verzweigten Furchen durchzogen die an die Rippen eines Weinblattes erinnern (Weinblattform). Dieses Wachstum ist jedoch keineswegs typisch für Typhusbacillen da es Coliarten gibt deren Kolonien das gleiche oder ein ähnliches Bild darbieten. Die Gelatine wird vom Typhusbacillus nicht verflüssigt. Auf der Kartoffel entwickelt sich ein feiner farbloser mit bloßem Auge nicht sichtbarer Überzug. Andererseits gibt es aber auch Kartoffelarten auf denen sich besonders bei alkalischer Reaktion ein grauer schmieriger Belag bildet. Die Bouillon wird gleichmäßig getrübt.

Die differentialdiagnostisch wichtigen biologischen Merkmale der Typhusbacillen. Für die Unterscheidung zwischen Typhusbacillen *Bact. coli* Paratyphusbacillen und *Bac. faecalis alcaligenes* kommt vor allem ihr Verhalten gegenüber Zuckerarten und Kohlenhydraten in Betracht.

Die Typhusbacillen vermögen Milchsucker nicht zu zersetzen sie rufen daher beim Wachstum in Milch keine Gerinnung hervor. Colibacillen dagegen bilden aus Milchsucker Säure und bringen nach 24- bis 48stündiger Bebrütung bei 37° die Milch zur Gerinnung. *Bacillus faecalis alcaligenes* und Paratyphusbacillen zeigen das gleiche Verhalten wie Typhusbacillen doch hellen die Paratyphusbacillen nach längerem Wachstum die Milch auf sie wird gelblich und durchsichtig.

In **Lackmusmolke** (vgl. Kapitel XII) wird von **Typhusbacillen** nach 24stündigem Wachstum wenig Säure (nicht mehr als 3% 0.1 n Säure entsprechend) von den **Colibacillen** reichlich Säure gebildet. Die **Typhusröhrchen** zeigen nur einen leicht rötlichen Farbenton und bleiben klar während die **Coliröhrchen** hellrot gefärbt werden und gleichmäßig getrübt erscheinen. **Bacillus faecalis alcaligenes** färbt infolge Alkalibildung die **Lackmusmolke** blau. Der Typus A der **Paratyphusbacillen** verhält sich wie **Typhusbacillen** während die anderen Typen anfangs leicht Säure, nach ein bis mehrtägigem Wachstum aber Alkali bilden.

Typhusbacillen und **Paratyphus A** bilden aus **Traubenzucker** und **Mannit** Säure aber kein Gas. **Bacillus faecalis alcaligenes** bildet weder Säure noch Gas. Die meisten Coliarten die **Paratyphus B**- und **Enterisbacillen** zersetzen beide Zuckerarten unter Gasbildung (CO_2).

Zuckerart	B. Coli	Typhusb.	Para typhusb. A	Para typhusb. B	B. faecalis alcaligenes
Trauben- zucker	++	+	++	++	—
Milch- zucker	+	—	—	—	—
Mannit	++	+	+	++	—
— = keine Zersetzung + = Säurebildung ++ = Säure- und Gasbildung					

Biologische Eigenschaften der Typhusbacillen und ähn-

Bakterien- art	Beweglich- keit	Ver			
		Milch	Lackmus- molke	Trauben- zuckeragar	Barnick- Trauben- zucker
Typhus- bacillen	beweglich	keine Ge- rinnung	wenig Säure klar	keine Ver- gärung	Rötung bis Ge- rinnung
Bacterium coli	unbeweg- lich oder schwach beweglich	Ge- rinnung	reichlich Säure, trübe	Ver- gärung	Rötung, Ge- rinnung, Gas- bildung
Alkali- bildner	beweglich	keine Ge- rinnung	Alkali	keine Ver- gärung	unver- ändert
Para- typhus- bacillus A	beweglich	keine Ge- rinnung	wenig Säure, klar	Ver- gärung	Rötung, Ge- rinnung
Para- typhus- bacillus B und Enteritis- bacillen	beweglich	keine Ge- rinnung	anfangs Säure, später Alkali	Ver- gärung	Rötung bis Ge- rinnung

rentialdiagnostisch in Betracht kommenden Bakterien

halten in

schen Nährböden mit		Neutral- rot Trauben- zucker agar	Grün- lösung I	Grün- lösung II	Indol- bildung
Milch- zucker	Mannit				
unver- ändert	Rötung Ge- rinnung	keine Re- duktion keine Ver- gärung	Ge- rinnung keine Gas- bildung	unver- ändert	keine Indol- bildung
Rötung, Ge- rinnung	Rötung Ge- rinnung Gas- bildung	Reduk- tion, Ver- gärung	Ge- rinnung, Gas- bildung	Ge- rinnung Gas- bildung	Indol- bildung
unver- ändert	unver- ändert	keine Re- duktion, keine Ver- gärung	unver- ändert	unver- ändert	keine Indol- bildung
unver- ändert	Rötung bis Gerinnung	Reduk- tion, Ver- gärung	Ge- rinnung Gas- bildung	keine Ge- rinnung färbt etwas dunkler grün	keine Indol- bildung
unver- ändert	Rötung Ge- rinnung, Gas- bildung	Reduk- tion, Ver- gärung	Ge- rinnung Gas- bildung	keine Ge- rinnung Gelb- färbung	keine Indol- bildung

Neutralrot wird von Typhusbacillen und *Bac. faecalis alcaligenes* nicht verändert während es von *Bact. coli* und Paratyphusbacillen reduziert wird. Reduziertes Neutralrot zeigt Gelbfärbung und grünliche Fluoreszenz. Die Prüfung geschieht durch Stichkultur oder besser durch Schüttelkultur in 1%igem Traubenzucker Neutralrotagar. In älteren Nährböden tritt die Reaktion deutlicher ein als in frischen (vgl. Kapitel XII) Die Traubenzuckervergärung kann auch durch Überimpfung auf 2%ige Traubenzucker bouillon geprüft werden die in Gärungskölbchen oder in U förmig gebogenen Röhrchen gefüllt ist

In *Loefflers Grünlösung I* (vgl. Kapitel XII) rufen Typhusbacillen nach 16- bis 20stündigem Wachstum Gerinnung hervor neben und über dem glatten Koagulum befindet sich eine klare grüne Flüssigkeit. *Coli* und Paratyphusbacillen fällen das Eiweiß des Serums infolge Vergärung des Traubenzuckers unter lebhafter Gasentwicklung aus das Koagulum erscheint infolgedessen nicht glatt sondern zerrissen und haftet als schmutzig grüner Belag an der Wandung des Röhrchens. An der Oberfläche der Flüssigkeit bildet sich ein grüner Schaumring

Grünlösung II lassen die Typhusbacillen unverändert die Colibakterien rufen dieselbe Veränderung wie in Lösung I hervor die Paratyphusbacillen entfärben sie allmählich so daß das helle Grün schließlich in ein blasses Gelb umschlägt ohne Gerinnung hervorzurufen. *Bac. faecalis alcaligenes* läßt beide Grünlösungen unverändert Mit Hilfe dieser beiden Lösungen lassen sich daher die Colibakterien Typhus- und Paratyphusbacillen sowie *Bac. faecalis alcaligenes* voneinander unterscheiden.

Barsiekowsche Nährböden (vgl. Kapitel XII) In der Lackmustraubenzuckerlösung (Barsiekowlösung I) entsteht durch Typhusbacillen und Paratyphusbacillen Rötung und Gerinnung durch *Bact. coli* Rötung Gerinnung und Gasbildung *Bac. faecalis alcaligenes* läßt sie unverändert. Die Lackmusmilchzuckerlösung (Barsiekowlösung II)

lassen Typhus Paratyphusbacillen und *Bac. faecalis alcaligenes* unverändert *B. coli* erzeugt darin Rötung Gerinnung und Gasbildung Bei Zusatz von Mannit rufen Typhusbacillen und Paratyphusbacillus A Rötung und allmählich Gerinnung hervor *B. coli* Paratyphusbacillus B und Enteritidisbacillen Rötung Gerinnung und Gasbildung *Bac. faecalis alcaligenes* läßt das Aussehen der Lösung unverändert.

Indol ein Produkt der Eiweißzersetzung wird von Typhusbacillen *Bac. faecalis alcaligenes* und Paratyphusbacillen im Gegensatz zu den meisten Coliarten auch nach mehrtägiger Bebrütung bei 37° nicht gebildet

Zur Prüfung auf Indolbildung werden Kulturen in Trypsinbouillon (vgl. Kapitel XII) oder in 0.1%iger Tryptophanbouillon angelegt Nach 21stündiger Bebrütung bei 37° wird die Bouillon mit zirka fünf Tropfen folgender Lösung überschichtet

Paradimethylamidobenzaldehyd	50
Amylalkohol	75.0
Konzentrierte Salzsäure	25.0

Fällt die Reaktion positiv aus so entsteht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein roter Ring Kochen der Kultur vor Zusatz des Reagens beschleunigt die Reaktion.

Bei Anstellung aller dieser Proben sind gleichzeitig ungeimpfte Kontrollröhrchen in den Brutschrank zu stellen

Wachstum der Typhusbacillen auf speziellen Nährböden. In dem Bestreben die Isolierung der Typhusbacillen aus Bakteriengemischen speziell bei Züchtungsversuchen aus den Faeces zu erleichtern sind eine Reihe von Nährboden angegeben worden auf denen die Typhusbacillen besonders gegenüber den Colibakterien augenfällige Differenzen in ihrem Wachstum zeigen Am meisten in Gebrauch sind der *Conradi Drigalski* sche Lackmuslactosengar der *Endosche* Nährboden Malachitgrünagar (Über die Herstellung der Nährböden vgl. Kapitel XII)

Auf dem *Conradi Drigalskischen* Nährboden bilden die *Typhusbacillen* nach 14- bis 24stündigem Verweilen bei 37° kleine glasige nicht doppelt konturierte, tautropfenähnliche Kolonien von blauer Farbe mit einem Stich ins Violette. Nur in seltenen Fällen besitzen die relativ großen Kolonien ein mehr trübes Aussehen.

Die *Bact coli* Kolonien sind größer als die des Typhus meist leuchtend rot und undurchsichtig. Manche Kolonien sind nur hellrot wenig trübe andere Coharten bilden größere speckig wachsende Kolonien die von einem rot gefärbten Hof umgeben werden. Die Untersuchung der Platten erfolgt bei durchfallendem Lichte.

Aber nicht nur Typhusbacillen sondern auch alle anderen Bakterien die Milchzucker nicht zu zersetzen vermögen verändern beim Wachstum auf diesem Nährboden seine blaue Farbe nicht. Ihre Kolonien unterscheiden sich jedoch häufig durch ihre Größe deutliche doppelte Konturierung durch eine matte trockene Oberfläche von den Typhuskolonien. Hierher gehören die Bacillen der Paratyphus Entertis-Gruppe *B faecalis alcaligenes* Bakterien aus der Gruppe des *Subtilis Proteus* und *Fluorescens*. Auch die Streptokokkenkolonien die sich bei Züchtungsversuchen aus den Faeces sehr oft zahlreich auf diesem Nährboden entwickeln gleichen in ihrer Farbe vollkommen den Kolonien der Typhusbacillen sind jedoch bedeutend kleiner als diese.

Auf *Endos Fuchsinagar* bilden die Typhusbacillen nach zwölfstündigem Wachstum bei 37° farblose, runde am Rande dünne Kolonien. Die Colikolonien werden nach zwölfstündigem Wachstum bei 37° vom Zentrum aus allmählich rot nach 24 Stunden erscheinen sie ganz rot gefärbt rund und am Rande hervorragend. Nach mehr als 24 Stunden sind die Colikolonien tief rot während die Typhuskolonien die jetzt den doppelten Umfang der Colikolonien erreicht haben, farblos bleiben oder nur einen leicht rötlichen Farbenton annehmen. Das gleiche Aus-

sehen wie die Typhuskolonien zeigen auf dem Fuchsinagar die Kolonien der Bakterien die auf dem *Conradi Drigalski* schen Nährboden blau wachsen

Der Endonährboden bietet dem Lackmuslaktoseagar gegenüber den Vorteil auch bei künstlichem Licht verwendbar zu sein während zum sicheren Erkennen der blauen Kolonien auf den Drigalskiplatten Tageslicht erforderlich ist. Ein großer Nachteil des Endoagars besteht darin daß bei Anwesenheit vieler Säurebildner der ganze Nährboden diffus gerötet wird wodurch das Herausfinden von farblosen Typhuskolonien unmöglich gemacht werden kann

Der Endoagar muß im Dunkeln gehalten werden, da er auch sonst allmählich rot färbt. Auf längere Zeit aufbewahrtm Lackmuslaktoseagar treten die Differenzen zwischen Typhus- und Colikolonien nicht mehr deutlich genug hervor. Dieser Nachteil ist zu vermeiden, wenn man den Nährboden ohne Zusatz von Lackmuspflözung kristallviolett und Milchzucker aufbewahrt und diese Substanzen erst kurz vor dem Gebrauch hinzusetzt (vgl. Kapitel VII). Ebenso kann man auch beim Endonährboden verfahren indem man den 3. igen Agar vorrätig hält und die übrigen Ingredienzien erst vor dem Gebrauch zusetzt. Die zu den beiden Nährböden zuzusetzenden Ingredienzien sind in Tablettenform erhältlich. Die Tabletten werden in einer kleinen Menge Wasser aufgelöst und dem aufgeschmolzenen, auf 60° abgekühlten Agar zugesetzt.

Malachitgrünagar nach *Löffler* (vgl. Kapitel VII) enthält Malachitgrün in einer Konzentration die Colibakterien und die meisten Alkalibildner fast völlig in ihrem Wachstum hemmt. Typhusbacillen dagegen nicht erheblich in ihrer Entwicklung beeinträchtigt. Bei Zusatz von Faeces kommen daher auf diesem Nährboden Colibacillen überhaupt nicht oder nur in ganz geringer Zahl zur Entwicklung.

Die Typhuskolonien sind nach 24stündigem Wachstum bei durchfallendem Licht betrachtet erst durchscheinend mikroskopisch kaum sichtbar (etwa noch horngrößer) die Colikolonien sind dicker und durchsichtig von weißlich trübem Aussehen.

Löffler empfiehlt bei Zuchtversuchen aus den Faeces dem Malachitgrünagar 3-stündiger Rundergalle zuzusetzen. Alsdann muß der Malachitgrünzusatz 1% einer 0,2 igen Lösung von Malachitgrün kristallinisch, chemisch rein betragen.

Auch bei Verwendung dieser Spezialnährböden ist aus dem Aussehen der Kolonie allein eine Diagnose nicht zu stellen. Vielmehr müssen die verdächtigen Kolonien abgestochen und die aus ihnen gezüchteten Reinkulturen auf ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften geprüft werden.

Gruppe der Paratyphus- und Enteritisbazillen.

Die Paratyphus-Enteritis-Gruppe umfaßt eine Reihe mikroskopisch übereinstimmender bakteriologisch und serologisch nahe verwandter Bakterien. Ihre Hauptvertreter sind der bei uns sehr selten beobachtete Paratyphusbacillus A, Paratyphusbacillus B Schottmüller und die als Enteritisbacillen bezeichneten Bacillus Breslau Aertryke Gärtner und suipestifer. Außerdem sind noch eine Reihe anderer Bakterien als Erreger von Paratyphuserkrankungen gefunden worden die meist nach ihrem Entdecker oder dem Ort an dem sie zuerst gefunden wurden benannt werden.

Die von den Paratyphusbacillen hervorgerufenen Erkrankungen zerfallen nach ihren klinischen Erscheinungen in zwei Gruppen: Die einen zeigen ein Krankheitsbild, das einem leichten bis mittelschweren Typhus gleicht, die anderen verlaufen unter den Symptomen einer akuten oder subakuten Gastroenteritis (Cholera nostras). Zu der zweiten, sporadisch und epidemisch auftretenden Form gehören Vergiftungen durch Nahrungsmittel (meist zerkleinertes Fleisch, das in der Regel von notgeschlachteten Tieren stammt, die an septischen Entzündungsprozessen litten, seltener Gemüse, Obst, Backwerk usw.) die mit Paratyphusbacillen infiziert sind.

Die Erreger der typhösen Form sind Paratyphusbacillus A und Paratyphusbacillus B „Schottmüller“ die gastroenteritische Form wird durch die sogenannten Enteritisbacillen hervorgerufen. Wenn Infektionen mit Paratyphusbacillen „Schottmüller“ mit akuten Magendarmerkrankungen beginnen so nehmen sie in der Regel bald einen typhösen Charakter an.

Alle Angehörigen dieser Gruppe sind kleine bewegliche sich nach Gram entfärbende Stäbchen die auf den gebräuchlichen Nährböden gut wachsen. Paratyphus B und Enteritisbacillen vergären Traubenzucker und Mannit unter Gasbildung lassen Milch unverändert reduzieren Neutralrot bilden kein Indol und in Lackmusmolke anfangs schwache Säure ohne sie zu trüben nach 24- bis 48stündigem Wachstum Alkali. Paratyphusbacillus A unterscheidet sich von ihnen durch sein Verhalten in Mannitlösungen und Lackmusmolke. Mannit wird von ihm ohne Gasbildung zersetzt Lackmusmolke schwach rot gefärbt, ohne sie zu trüben (vgl. Tabelle S 120 121)

Auf Conrad's Drigalski Platten entstehen blaue Kolonien die meist aber nicht regelmäßig größer saftiger und weniger durchsichtig als Typhuskolonien sind auch auf Endoagar erscheinen die farblosen Kolonien meist größer und uppiger entwickelt als die der Typhusbacillen

Auf Malachitgrünagar bilden sie nach 16- bis 24stündigem Wachstum bei 37° glasig durchscheinende leicht milchig getrubte Kolonien von 2 bis 3 mm Durchmesser die den Nährboden in ihrer Umgebung gelb färben.

Der Malachitgrünagar bietet gerade den Paratyphusbacillen sehr günstige Wachstumsbedingungen. Er leistet daher besonders nach der Methode von *Lents* und *Tsets* als Vorkultur angewendet gute Dienste zu ihrer Züchtung aus den Faeces (cf S 131)

Die Differenzierung der einzelnen Typen der Paratyphusgruppe erfolgt auf Grund ihrer kulturellen Eigenschaften der Pathogenität im Mäusefütterungsversuch und der Agglutinationsprobe.

Paratyphus bacillus A nimmt in dieser Gruppe eine Sonderstellung ein und ist auf Grund seiner biochemischen Eigenschaften (vgl. Tabelle S 120 121) und durch die Agglutinationsprobe sicher von den anderen Paratyphusbacillen zu trennen.

Paratyphus bacillus Schottmüller und *Enteritishacillen* Isoliert stehende Kolonien frisch aus dem Körper gezuchteter Paratyphus Schottmüller Stämme zeigen eine charakteristische Schleimwallbildung wenn sie nach 24stündiger Bebrütung bei 37° 24 Stunden bei 18 bis 22° gehalten werden. Der Schleimwall hebt sich scharf und ziemlich steil von der Mitte der Kolonie ab ohne sie immer vollständig zu umschließen. Bei der mikroskopischen Untersuchung erscheint der Wall radiär gestreift oder gleichmäßig dunkel körnig granuliert Gärtner Bacillen zeigen häufig aber nicht

so ausgesprochen regelmäßig Schleimwallbildung die unter gleichen Bedingungen gehaltene Breslau und Suipestifer Kolonien nie erkennen lassen. Die Schleimwallbildung tritt am deutlichsten ein wenn man auf der Agar oder Drigalski Platte mit einer Nadel etwa drei weit voneinander liegende Impfstiche macht. Es entstehen dann sogenannte Makrokolonien.

Auf Agar der 1% Raffinose (ein Trisaccharid aus Fructose Dextrose und Galactose) enthält entstehen auf den Kolonien des Typus Schottmüller nach viertägiger Bebrütung bei 37° knopfartige Gebilde die sich bei den anderen Vertretern dieser Gruppe nicht entwickeln.

Für Breslau Bacillen ist die eigenartige Verwurzelung der Kolonien in den Nährboden charakteristisch. Die Bacillen wachsen wenn die Kulturen ein bis mehrere Tage bei Zimmertemperatur gehalten werden in den Nährboden hinein so daß ein vollständiges Abstreifen der Kolonie vom Nährboden nicht gelingt, es bleibt ein schattenhaftes Abbild der Kolonie darauf zurück.

In flüssigem Rhamnose Nährboden (vgl. Kapitel XII) bilden Breslau Bacillen schneller Säure als Schottmüller Bacillen. Die reichlich beimpften Röhren werden genau 15 Stunden bei 37° bebrütet dann werden zwei bis drei Tropfen einer 0.5%igen alkoholischen Methylrotlösung hinzugesetzt. Breslau Kulturen färben sich infolge der gebildeten Säure rot. Schottmüller Kulturen werden gelb gefärbt. Suipestifer Kulturen zeigen einen orangefarbenen Ton. Die genannten Unterscheidungsmerkmale gelten nur für frisch aus dem Körper gezüchtete Kulturen.

Mäusefütterungsversuch. Eine 24stündige gut bewachsene Schrägagar Kultur wird mit 10 cm³ abgekochtem Wasser abgeschwemmt. Mit der Abschwemmung wird ein kleines Weißbrotstückchen getränkt und hiermit eine ausgewachsene weiße Maus die 24 Stunden vorher gehungert hat gefüttert.

Paratyphusbacillus Schottmüller ist für weiße Mäuse nicht pathogen während die meisten *Enteritis* bacillen sie innerhalb drei bis sieben Tagen bakteriämisch töten. Aus dem Herzblut und allen Organen sind die gefütterten Bacillen in Reinkultur zu züchten.

Die aus Faeces nicht selten zur Entwicklung kommenden *Paracolibacillen* stimmen in ihren biochemischen Eigenschaften vielfach mit *Paratyphusbacillen* überein sie unterscheiden sich von ihnen durch die Fähigkeit Indol zu bilden.

Serologische Untersuchung. Durch die Agglutinationsprobe mit hochwertigem Tierimmunserum gelingt es die *Paratyphusbacillen* von der Typhus-Gruppe zu trennen. Gärtner Bacillen werden allerdings von Typhussera oft bis zur Titergrenze agglutiniert und Typhusbacillen nicht selten von Paratyphussera und umgekehrt *Paratyphusbacillen* von Typhussera bis zu einem gewissen Grade beeinflusst. Es ist daher nötig die Sera stets bis zur Titergrenze zu prüfen.

Die *Paratyphus-Enteritis* Gruppe selbst kann durch die Agglutinationsprobe unter Berücksichtigung des Antigenaufbaues der zu ihr gehörenden Bakterien in eine Reihe wohl charakterisierter Typen aufgeteilt werden. Die Bakterien besitzen zwei in ihrem Wesen verschiedene Antigene die als O- und H Antigene bezeichnet werden. Das O-Antigen ist thermostabil und ein Bestandteil der Leibessubstanz der Bakterien das H Antigen gehört ihrem Geißelapparat an. Es fehlt mithin in unbeweglichen Bakterien. Bei der Immunisierung mit *Paratyphus-Enteritis*-Bacillen entstehen den beiden Antigenen entsprechend zwei Gruppen von Agglutinen die qualitative Unterschiede aufweisen (s. S. 401).

Das O Antigen ermöglicht die Trennung der *Paratyphus-Enteritis* Bacillen in vier große Gruppen die mit A B C und D bezeichnet werden. Jede dieser Gruppen besitzt ein gemeinsames für sie typisches O-Antigen das

bei der Immunisierung Agglutinine erzeugt die im allgemeinen nur die Angehörigen der betreffenden Gruppe agglutinieren

Das H Antigen ermöglicht, jede der vier Gruppen in einzelne Typen aufzuteilen. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß das H Antigen bei den meisten Stämmen in zwei serologisch verschiedenen Formen auftritt, von denen die eine bei der Immunisierung ein spezifisches, nur die homologe Art agglutinierendes Serum erzeugt, die andere ein unspezifisches Serum, das auch auf andere Typen übergreift (spezifische und unspezifische Phase nach *Andrewes*). Stämme, die nur das spezifische Antigen besitzen, heißen monophasisch, Stämme mit spezifischem und unspezifischem Antigen diphasisch.

Beim Ausstreichen auf einer Platte spaltet sich die Kultur in Kolonien auf, die entweder das spezifische oder unspezifische Antigen besitzen. Bei frisch gezüchteten Stämmen kommen oft vorwiegend Kolonien in der spezifischen Phase zur Entwicklung, wodurch die Typenfeststellung erleichtert wird.

Zur Gruppe A gehören Paratyphus A und Senftenberg. Die wichtigsten Vertreter der Gruppe B sind Bacillus Schottmüller, Breslau, Stanley, Reading, Derby, Brandenburg. Zur Gruppe C gehören u. a. die Stämme Snipester, Vesportz, Orient, Amerika, Berlin, Potsdam. Zur Gruppe D Bacillus Gärtner, Kiel, Moskau, Sendon. Eine Sondergruppe bildet der Typus London.

In der Praxis kommt es zunächst darauf an, festzustellen, ob überhaupt eine Infektion durch Paratyphusbacillen vorliegt. Hierzu benutzt man ein polyvalentes Paratyphusserum (im Reichsgesundheitsamt erhältlich) zu dessen Herstellung möglichst viele Vertreter der Paratyphusgruppe verwandt wurden. Erst in zweiter Linie ist es von Interesse, durch weitere Untersuchung mit typenspezifischen Sera zu prüfen, um welchen Stamm der Paratyphusgruppe es sich handelt (s. S. 404).

Gang der Untersuchung der Faeces auf Typhus- und Paratyphusbacillen

I Die Aussaat der Faeces. Flüssige Entleerungen gelangen direkt zur Aussaat feste und breiige nach Verreibung mit einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einer dichten Aufschwemmung Schleimflocken nach Waschen in mehrfach ernannter steriler physiologischer Kochsalzlösung

Auf einem der angeführten Nährboden werden Oberflächenkulturen angelegt wobei man sich eines recht winklig gebogenen Glasspatels bedient der im Heißluft trockenschrank oder durch Abbrennen mit Alkohol sterilisiert wird. Man bringt einen Tropfen des Untersuchungsmaterials auf die Oberfläche einer Platte verreibt ihn mit dem Spatel gründlich nach allen Richtungen hin und streicht ihn in derselben Weise über eine zweite und dritte Platte aus ohne ihn vorher abzubrennen oder nochmals mit den Faeces in Berührung zu bringen (fraktionierte Aussaat) Auf diese Weise gewinnt man auf der zweiten bzw dritten Platte isolierte Oberflächenkolonien Um Nährmaterial zu sparen kann man die fraktionierte Aussaat auch in der Weise vornehmen daß man das Untersuchungsmaterial auf der ersten Platte gründlich mit dem Spatel verreibt und diesen dann über die zweite Platte nur einmal hinführt. Man erhält so schon auf der zweiten Platte isolierte Kolonien Conradl Drigalski Platten bleiben nach der Aussaat noch einige Zeit an einem staubfreien Ort offen stehen bis sie vollkommen trocken geworden sind um das Ineinanderfließen der sich entwickelnden Kolonien zu verhüten Die Platten kommen mit dem Deckel nach unten in den Brutschrank bei 37°

Nach der Methode von *Lentz* und *Tietz* werden von den Faeces eventuell nach Verreibung mit physiologischer Kochsalzlösung zwei dicke Tropfen auf einer großen Malachitgrünplatte mit dem Spatel ausgestrichen sodann führt man den Spatel einmal über eine Drigalski oder Endoplatte fort

Als Vorkultur für Typhus und Paratyphusbacillen geeignet ist der Tetrathionat Nährboden nach Kaufmann (vgl. Kapitel XII) zur Anreicherung für Paratyphusbacillen und zur Zucht von Typhusbacillen aus dem Urin die Brillantgrünbouillon (vgl. Kap. XII). Zur Aussaat gelangen 0.1 bis 0.5 cm³ einer dichten Faecesaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung. Nach 38stündiger Bebrütung der Brillantgrünbouillon bei 37° erfolgt Aussaat von zwei bis drei von der Oberfläche entnommenen Tropfen auf Endo- oder Drigalski Platten. Vom Tetrathionat Bouillon erfolgt die Aussaat auf festen Nährboden nach drei bis sechsstündiger und nach 20stündiger Bebrütung bei 37°.

Welcher von den zahlreichen empfohlenen Nährböden zur Anwendung kommt, hängt von den Erfahrungen des Untersuchers ab. Er wird mit dem Nährboden die besten Resultate erzielen, auf den er besonders eingearbeitet ist.

Es empfiehlt sich, stets Plattenserien von zwei verschiedenen Nährböden anzulegen und große Doppelschalen von 15 bis 20 cm Durchmesser anstatt der üblichen Petrischalen zu benutzen. Milchsuckerlackschwarz muß zum Gebrauch vollkommen trocken sein. Man läßt daher die Platten, bevor sie beimpft werden, noch eine Stunde im Brutschrank, mit dem Boden nach oben gekehrt, offen stehen.

II Untersuchung der Platten. Am Tage nach der Impfung werden die Platten in folgender Weise geprüft.

Für die Untersuchung kommen auf den Conrad Drigalski Platten die blauen Kolonien auf den Fuchsinplatten die farblosen auf dem Malachitgrünagar die zarten durchscheinenden Kolonien in Betracht. Diese werden zunächst der orientierenden Agglutinationsprobe unterzogen. Die Probeagglutination wird zuerst mit einem Typhus-Immun Serum in einer Verdünnung von 1:100 vorgenommen. Bei negativem Ausfall stellt man den Versuch mit einem polyvalenten Paratyphus-B Serum an, das zur Stellung der Grunddiagnose am wichtigsten ist, weil es meist auch die anderen Paratyphusstämmen mitagglutiniert, ferner mit Gärtner und Seppeser Serum (Serumverdünnung 1:100 bis 1:400). Die Typenfeststellung erfolgt nach Züchtung in Reinkultur mittels der typenspezifischen Sera.

Man bringt je einen Tropfen der verdünnten Sera und einen Tropfen Kochsalzlösung (Kontrolle) auf den Objektträger und verreibt zu jedem Tropfen mit einer Platinnadel eine minimale Menge der zu untersuchenden Kolonie. Die Ablesung erfolgt sofort nach dem Verreiben der Kolonie in der Serumverdünnung mittels Lupe. Der Rest der Kolonie wird zur Züchtung einer Reinkultur auf schräg erstarrten Agar übertragen. War die Kolonie so klein, daß hierzu kein Material mehr zur Verfügung steht, so kann die Reinkultur aus den Tropfen der Agglutinationsprobe angelegt werden. Natürlich muß dann der Objektträger vor ihrer Anstellung durch Flambieren sterilisiert werden.

Es ist stets notwendig eine Reihe verdächtiger Kolonien zu prüfen und in Reinkultur zu züchten.

Der positive Ausfall der Probeagglutination allein genügt nicht zur sicheren Identifizierung der Bakterien. Es ist an das Vorkommen paraggglutinierender Stämme zu denken (siehe Serumdiagnostik). Der Nachweis paraggglutinierender Bakterien ist aber insofern von diagnostischem Wert, als er anzeigt, daß noch spezifische Krankheitserreger im Körper vorhanden sein müssen. Sie werden daher als Leitbakterien bezeichnet. Andererseits ist bei negativem Ergebnis der Probeagglutination zu berücksichtigen, daß auf den Spezialnährboden gewachsene Bakterien häufig schwer agglutinabel sind und erst nach Züchtung in Reinkultur auf Agar agglutiniert werden.

Die nach der Methode von *Lents* und *Tsets* angelegten Kulturen werden in folgender Weise untersucht. Nach 16- bis 20stündigem Aufenthalt der Platten im Brutofen werden zunächst die Drigalski oder Endo-Platten auf das Vorhandensein verdächtiger Kolonien geprüft. Werden keine gefunden, so wird die grüne Platte vorsichtig vom Rande her möglichst hoch mit physiologischer Kochsalzlösung überschichtet und bleibt dann fünf Minuten ruhig stehen. Innerhalb dieser Zeit sind hauptsächlich die Typhus- und Paratyphuskolonien an die Oberfläche gelangt. Von

der Oberfläche der Flüssigkeit werden eine bis drei Ösen je nach der Dichte des gewachsenen Rasens abgenommen und auf eine Conradi Drigalski oder Endoplatte übertragen und mit dem Glasspatel auf dieser und einer zweiten Platte verrieben. Nach 16- bis 20stündigem Aufenthalt im Brutofen werden diese Platten in der beschriebenen Weise untersucht.

Die Reinkulturen die von den abgestochenen Kolonien gewonnen sind werden am nächsten Tage im gefärbten Präparat und hängenden Tropfen untersucht und zur Prüfung der biologischen Eigenschaften der gerühteten Bakterien auf die Grundlösung „Löffler Lackmusmolke Trypsinbouillon“ (zur Prüfung auf Indolbildung) oder auf Milch Traubenzuckerneutralrotagar Lackmusmolke Bar siekow Nährboden und Trypsinbouillon überimpft ferner wird die quantitative makroskopische Agglutinationsprobe angestellt.

Die Stellung der Diagnose wird beschleunigt, wenn man den Rest der untersuchten Kolonie zunächst in etwa 1 cm³ Bouillon zur Anreicherung überträgt und von dort schon nach sechstündiger Bebrütung Reinkulturen anlegt und auf die sogenannte bunte Reihe überimpft.

Gehört der gezuchtete Stamm nach seinem kulturellen Verhalten zur Paratyphus-Enteritis-Gruppe, wird mit je einem Serum der Gruppen A B C und D agglutiniert das auf spezifische und unspezifische Anteile reagiert. Handelt es sich um einen Stamm der B Gruppe so kann durch Agglutination auf dem Objektträger die Differentialdiagnose zwischen Schottmüller und Breslau gestellt werden (siehe Tabelle). Zur genauen Typendifferenzierung sind nach Kaufmann 12 agglutinierende Immunsere erforderlich. Für die praktische Diagnostik kommt ihr noch keine Bedeutung zu.

Die Bakterien sind als Typhus- bzw Paratyphus bacillen identifiziert wenn sie mit diesen in ihren biologischen Eigenschaften übereinstimmen und von einem

Tabelle nach Boecker und Kaufmann

Stamm	Typenspezifisches Schottmüller Serum	Typenspezifisches Breslau Serum
Schottmüller spezifische Kolonie	+	—
Schottmüller unspezifische Kolonie	—	—
Breslau spezifische Kolonie	—	+
Breslau unspezifische Kolonie	—	—

hochwertigen Immunsérum in einer Verdünnung agglutiniert werden die dem Titer des Sérum's nahekómm't.

Es muß jedoch bemerkt werden daß frisch gezüchtete Typhusbacillen sich mitunter als nicht oder schwer agglutinabel erweisen und erst nach mehrfacher Überimpfung auf Agar leichter agglutiniert werden. Sehr gut agglutinable Stämme erhält man bei Züchtung der Typhusbacillen auf 1%igem Galaktoseagar.

Der Nachweis der Typhusbacillen im Stuhlgang kann selbst bei klinisch sicheren Typhusfällen müßigen. Nicht selten führen erst mehrfach wiederholte Untersuchungen zum Ziel. Am meisten Aussicht auf Erfolg bieten noch die typischen diarrhöischen Entleerungen, sei es, weil die Krankheitserreger in ihnen in größerer Menge ausgeschieden werden, sei es, daß sie gleichmäßig darin verteilt sind, während sie im geformten Stuhlgang sich häufig nur in einer einzelnen Flocke finden, in deren Umgebung aber fehlen. Es kann daher mehr oder weniger vom Zufalle abhängen ob überhaupt Infektionserreger enthaltendes Material zur Aussaat verwandt wird. Hierzu kommt, daß Typhusbacillen während des ganzen Krankheitsverlaufes nicht regelmäßig, sondern nur schubweise mit dem Faeces ausgeschieden werden. Am günstigsten sind die Aussichten, die Typhusbacillen in den Faeces nachzuweisen, in der dritten Krankheitswoche. Sehr selten findet man sie in der ersten, häufiger schon in der zweiten Krankheitswoche.

Zur Stellung der Frühdiagnose kommt die Untersuchung der Darmentleerungen auf Typhusbacillen nicht mehr in dem Maße in Betracht, als es früher der Fall war da wir jetzt in der Blutuntersuchung ein schneller und sicherer zum Ziele führendes Hilfsmittel besitzen. Von Wichtigkeit ist die Untersuchung der Faeces auf Typhusbacillen zur Fest-

stellung der Bacillenträger und Dauerausscheider Ausschlaggebend ist die Fäecesuntersuchung zur Feststellung der Infektion durch Enteritibacillen, deren Nachweis im Blute nicht möglich ist, da sie nur eine lokale Darmerkrankung hervorrufen und nicht in die Blutbahn eindringen.

Nahrungsmittelvergiftungen

Die Nahrungsmittelvergiftungen lassen sich etiologisch und nach ihrem klinischen Verlaufe in drei Gruppen teilen

1 Nahrungsmittelvergiftungen, die durch Paratyphus-Enteritibacillen hervorgerufen werden und ein der Cholera nostras gleichendes Krankheitsbild zeigen (vgl S 128) Da diese Bacillen ein hitzebeständiges Toxin bilden wirken auch gekochte Nahrungsmittel, die mit ihnen infiziert sind krankmachend

2 Nahrungsmittelvergiftungen, die mit gastro-intestinalen Krankheitserscheinungen und nervösen Symptomen, wie Benommenheit, einhergehen und vorwiegend durch den Genuß von Fleisch hervorgerufen wurden das von gesunden Tieren stammt, sich aber im Zustand beginnender Fäulnis befindet Hierbei kommen Saprophyten vor allem Proteus- und Coliarten in Betracht, die sich erst nachträglich in dem ursprünglich nicht gesundheitsschädlichen Fleisch angesiedelt haben

3 Botulismus, hervorgerufen durch den Genuß von Nahrungsmitteln in nicht gekochtem Zustande die längere Zeit vor ihrem Verbrauch unter Luftabschluß konserviert waren (Blut Leberwurst, geräucherter, gepökelter Fleisch, Wildpasteten Konserven, gesalzene Fische (Ichthyostomus) usw

Beim Botulismus wird das Krankheitsbild von nervösen Störungen zentralen Ursprunges beherrscht (Akkommodationslähmungen, Mydriasis, Ptosis, Doppeltsehen, Schlucklähmungen usw) Magendarmstörungen fehlen oder sind nur vorübergehend vorhanden Häufig ist Obstipation und Retentio urinae Hervorgerufen wird der Botulismus durch den Bacillus botulinus Er ist ein ziemlich großes Stäbchen mit abgerundeten Ecken, er ist schwach beweglich, bildet endständige Sporen und verhält sich nach der Gramschen Methode positiv

Der Bacillus botulinus ist streng anaerob auf Traubenzuckergelatineplatten bildet er charakteristische Kolonien „Sie sind kreisförmig, durchsichtig leicht gelblich und setzen sich aus groben Granulationen zusammen, die eine beständige Beweglichkeit zeigen“ (von Ermengau). Traubenzucker wird vergärt Gelatine verflüssigt. Er wächst schon bei 18° am besten bei 22° und verträgt Temperaturen bis 37° Das in den Kulturen gebildete Gas riecht nach ranziger Butter Der Bacillus botulinus bildet ein Toxin, das durch Erhitzen auf 70° zerstört wird

Der Bacillus botulinus vermehrt sich im menschlichen Organismus nicht, er wirkt deletär auf das Nervensystem durch seine auf einem toten Substrat präformierten Gifte Sein Nachweis im erkrankten Organismus gelingt daher nicht. Die Diagnose Botulismus läßt sich durch intraperitoneale Verimpfung von Blutserum (2 cm³) auf Meerschweinchen und durch den Nachweis der Bacillen und ihres Toxins in den Nahrungsmitteln, die zur Erkrankung geführt haben, stellen. Zum Nachweis des Giftes in den Nahrungsmitteln benutzt man weiße Mäuse, die mit den verdächtigen Nahrungsmitteln gefuttern oder mit Aufschwemmungen derselben subcutan gespritzt werden. Die Aufschwemmung kann in der Weise hergestellt

werden, daß das Untersuchungsmaterial zerkleinert und mit physiologischer Kochsalzlösung eine Stunde im Schüttelapparat geschüttelt wird. Die Mäuse zeigen schon zwölf Stunden nach der Injektion schwere Krankheitsercheinungen, bewegen sich mit schleppenden Hinterbeinen und voll ständig geschlossenen Augen und gehen nach 24 bis 30 Stunden zugrunde. Die mit Blutserum der Erkrankten geimpften Mäuse weichen verenden gleichfalls schnell unter den für Botulismustoxin charakteristischen Erscheinungen: Speichelfluß, Lähmungserscheinungen in den hinteren Extremitäten, Kot- und Harnverhaltung, starke Atemnot.

Naheres über die Methodik der Untersuchung von Nahrungsmittelvergiftungen ist bei *Becker und Kaufmann* Bakteriologische Diagnostik (*Julius Springer* 1931), zu finden.

Dysenteriebacillen

Ätiologisch und klinisch sind zwei Formen von Dysenterie zu unterscheiden von denen die eine durch Bacillen, die andere durch Amöben hervorgerufen wird. Die Bacillendysenterie tritt epidemisch auf und kommt in allen Klimaten vor, die Amöbendysenterie (Amöben enteritis) wird besonders in tropischen Ländern beobachtet und hat mehr endemischen Charakter (vgl. Seite 89).

Die Bacillenruhr ist ätiologisch keine einheitliche Erkrankung, als Erreger kommen verschiedene Bakterien in Betracht, die zwar einander sehr nahe stehen, aber doch durch ihre biologischen Eigenschaften zu trennen sind. Die meisten Untersucher folgen der von *Lent* vorgeschlagenen Einteilung der bei Dysenterie gefundenen Bakterien in zwei Gruppen: in die sogenannten giftbildenden Dysenteriebacillen, deren Vertreter der Typus Shiga Kruse ist, und die giftarmen Dysenteriebacillen.

I Schmitz Bacillus

II Die Flexner & Crapp

1 Flexner Bacillus

2 Y Bacillus

3 Strong Bacillus

III Kruse-Sonne-Bacillus (F Bacillen)

Kruse bezeichnet die giftarmen Dysenteriebacillen als Pseudodysenteriebacillen und teilt sie auf Grund der Agglutinationsprüfung und der Abtätigungsprobe nach *Castellani* in eine Reihe von Rassen ein und bezeichnet sie

mit den Buchstaben des Alphabetes A bis J. Er unterscheidet Haupt- und Nebenrassen zu ersteren zählen die Gruppen A, B und E.

Die Einteilung in giftige und giftarme Ruhrbacillen gründet sich auf der Beobachtung daß zwar alle Dysenteriebacillen bei subcutaner, intraperitonealer und intravenöser Injektion für Versuchstiere pathogen sind, die Shiga Kruse-Bacillen aber die weitaus größte Wirkung im Tierversuch ausüben und daß ferner von allen Ruhrbacillen nur der Typus Shiga Kruse echte wasserlösliche Toxine zu produzieren vermag.

Die Typen der Dysenteriebacillen zeigen im mikroskopischen Bilde keine wesentlichen Unterschiede. Sie sind kurze plumpe Stäbchen. Ihre Enden sind meist abgerundet, nur mitunter etwas verjüngt. In ihrer Form sind sie im gewissen Grade veränderlich, manche Stämme besitzen fast die schlanke Form der Typhusbacillen, andere nähern sich in ihrem Aussehen der Kolikform. Die Ruhrbacillen sind unbeweglich, weisen aber lebhafteste Molekularbewegung auf, sie bilden keine Sporen. Mit verdünnten Anilinfarbstoffen färben sie sich leicht und verhalten sich der Gramschen Methode gegenüber negativ.

Kulturelle Eigenschaften. Die Dysenteriebacillen wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden. Ihr Temperaturoptimum liegt bei 37° aber auch bei Zimmertemperatur kommen sie gut fort. Die Kulturen entwickeln oft einen deutlichen Sperrnageruch. Auf Agar bilden sie meist runde, flache Kolonien, die in auffallendem Licht weißlich, feucht, bei durchfallendem Licht bläulich irisierend erscheinen. Ein abweichendes Verhalten zeigt der Kruse-Sonne-Bacillus, er bildet auf der Agarplatte entweder völlig einheitlich rasch sich vergrößernde, graulich-trübe, flache Kolonien mit unregelmäßig gezackten Rändern, oder es finden sich neben diesen sogenannten *f* Formen runde, glasig durchsichtige, gewölbte, glattrandige Kolonien (*g* Formen) aus denen nach 24- bis 48stündiger Bebrütung

fl Formen herauswachsen die sich schnell vergrößern so daß die g Form schließlich nur wie ein Anhängsel erscheint. Auf Gelatine gleichen die Oberflächenkolonien des Typus Shiga Schmitz und Strong nach 48stündigem Wachstum denen der Typhusbacillen sie zeigen gleichfalls die sogenannte Weinblattform während *Bacillus Flexner* Y und Kruse-Sonne meist knopfartig erhabene runde Auflagerungen bilden. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Bouillon wird von *Bacillus Shiga Flexner* Y Strong und Schmitz gleichmäßig getrübt letzterer bildet außerdem eine Kahnhaut Kruse-Sonne-Bacillen bilden einen starken Bodensatz unter geringer Trübung der Bouillon.

Auf dem *Conradi Drigalski*schen Nährboden bilden Typus Shiga Flexner Strong und Schmitz runde leicht milchig getrühte Kolonien und verändern die blaue Farbe des Nährbodens nicht. Typus Y wächst in Kolonien die meist einen deutlich gezackten Rand haben und oft verzerrte Formen aufweisen ihr Farbenton ist mehr rötlich violett Kruse-Sonne-Bacillen bilden blaue sich allmählich rötende Kolonien Auf Endoplaten wachsen die Dysenteriebacillen in farblosen Kolonien nur der Kruse-Sonne-Bacillus bildet rosafarbene Kolonien auf denen nach mehr tägigem Wachstum knopfförmige dunkel fuchsinrote metallglänzende Tochterkolonien entstehen. Üppiges Wachstum zeigen die Ruhrbacillen auf Blutagar und Agar der 10% Kaninchenserum enthält.

Alle Dysenteriebacillen bilden wie Typhusbacillen aus Traubenzucker Saure aber kein Gas und vermögen Milchzucker nicht anzugreifen Eine Ausnahme bildet der *Bacillus* Kruse-Sonne der Milchzucker säuert und Milch nach 8 bis 14 Tagen zur Gerinnung bringt. Neutralrot wird nicht reduziert. Infolgedessen zeigen alle Dysenteriebacillen nach 24stündiger Bebrütung bei 37° übereinstimmendes Verhalten beim Wachstum in Milch in Traubenzucker Neutralrotagar und Lackmusmolke in Milch tritt keine Gerinnung ein in Traubenzuckeragar keine Gasbildung Neutralrot wird nicht reduziert in Lackmusmolke wird

schwach Säure gebildet ohne sie zu trüben. Für Kruse-Sonne-Bacillen ist charakteristisch daß nach zwei bis sieben Tagen die Lackmusmolke wieder die ursprüngliche Farbe annimmt um nach 8 bis 23 Tagen wieder in Rot umzuschlagen. Differenzen weisen die Typen bezüglich der Indolbildung auf *Bacillus Shiga* Kruse *Kruse-Sonne* bilden niemals Indol *Bacillus Flexner* und *Schmütz* *Bacillus* regelmäßig *Bacillus Y* und *Strong* verhalten sich ungleichmäßig einzelne Stämme geben positive andere negative Indolreaktion.

Verschiedenes Verhalten zeigen die vier Typen Mannit Maltose Saccharose und Rhamnose gegenüber

Typus *Shiga* Kruse vermag keine dieser Zuckerarten zu zersetzen.

Typus *Kruse-Sonne* vergärt Mannit und Rhamnose aber nicht Saccharose Maltose gegenüber verhält er sich ungleichmäßig

Typus *Schmütz* vergärt nur Rhamnose

Typus *Y* vergärt Mannit aber nicht Maltose Saccharose und Rhamnose.

Typus *Flexner* vergärt Mannit und Maltose, aber nicht Saccharose und Rhamnose.

Typus *Strong* vergärt Mannit und Saccharose, aber nicht Maltose und Rhamnose.

Dieses Verhalten gegenüber den Kohlehydraten trifft nur für frisch gezuchtete Kulturen zu. Zu seiner Prüfung werden nach *Lents* Oberflächenkulturen auf Lackmusagar angelegt dem 13% Mannit Maltose oder Saccharose oder 1% Rhamnose zugesetzt sind. Es müssen hierzu chemisch reine Präparate benutzt werden. Bei Zersetzung der Kohlenhydrate wird der Nährboden nach 24stündiger Bebrütung bei 37° gerotet. Dem gleichen Zweck dienen die von *Hetsch* angegebenen Lösungen die 2% Mannit oder Saccharose bzw 25% Maltose oder 1% Rhamnose enthalten. In diesen Lösungen ist der Farbumschlag schon nach 12 Stunden zu beurteilen (vgl. Tabelle S 142) Zur Unterscheidung der Typen *Schmütz* und *Kruse-Sonne* von den

anderen Arten kann noch die Fuchsinbouillon nach Stern herangezogen werden die von ihnen fuchsinrot gefärbt wird während die anderen Arten sie gelb lassen.

Differentialdiagnose der einzelnen Typen der Ruhrbacillen. Shiga Kruse- Schmitz und Kruse-Sonne-Bacillen sind durch ihre biochemischen Eigenschaften und vor allem durch die Agglutination mit einem homologen Immuns serum sicher zu identifizieren und von den anderen Ruhrerregern abzutrennen. Bei Kruse-Sonne-Bacillen ist zu berücksichtigen daß aus g Kulturen gewonnene Sera nur g Kulturen aus fl-Kulturen gewonnene Sera nur fl-Kulturen agglutinieren. Es müssen daher Mischsera zur Agglutinationsprüfung verwandt werden.

Schwierigkeiten bietet die Differenzierung der Typen der Flexner χ Gruppe untereinander. Bei frisch aus den Organismus gezüchteten Stämmen ist das Verhalten gegenüber Mannit Maltose, Saccharose und Rhamnose zu prüfen. Typus χ ist ferner charakterisiert durch sein Wachstum auf der Conrad Drigalski Platte.

Die Agglutinationsprobe liefert bei diesen Typen keine zuverlässigen Resultate da sie keinen einheitlichen Rezeptorenapparat besitzen und daher Flexner Sera auch χ und Strong Bacillen bis zur Titergrenze agglutinieren. Die serologische Identifizierung der Dysenteriebacillen wird auch dadurch erschwert daß bei allen Typen schwer agglutinable Stämme vorkommen die erst nach mehrfacher Überimpfung leichter agglutinabel werden.

Differenzierung gegenüber den Bacillen der Typhus Enteritis Coli Gruppe. Von Coli Paratyphusbacillen und den Alkalibildnern unterscheiden sich die Dysenteriebacillen schon durch ihr Verhalten in den Milchrucker Traubenzucker und Neutralrot enthaltenden Nährböden. Dazu kommt die Agglutination mit spezifischem Tierimmuns serum. Typhusbacillen gegenüber ist diese Reaktion das einzig sichere Unterscheidungsmittel.

Nährböden kombinierte Plattenserie zu beimpfen z. B. zu erst zwei Endoplatten dann eine Agarplatte und zum Schluß eine Serum oder Blutagarplatte. Die Platten werden nach 18- bis 24stündiger Bebrütung bei 37° untersucht. Die verdächtigen Kolonien werden mittels Probeagglutination geprüft. Hierdurch soll zunächst festgestellt werden ob überhaupt Ruhr vorliegt. Die Bestimmung der Rasse bleibt der späteren Untersuchung überlassen.

Neben einem Shiga Serum verwendet man ein Mischserum das aus Flexner Schmidt und Kruse-Sonne-Serum besteht. Die Probeagglutination liefert wegen des häufigen Vorkommens schwer agglutinabler Stämme und paraagglutinabler Bakterien (vgl. S. 133) bei Ruhrbacillen nicht so zuverlässige Resultate wie bei Typhusbacillen. Verdächtige Kolonien sind unabhängig vom Ausfall der Probeagglutination in Reinkultur zu züchten (vgl. S. 134). Die Reinkulturen werden im hängenden Tropfen und gefärbtem Präparat untersucht durch Überimpfung auf Lackmusmolke Traubenzucker Neutralrotagar *Hetschke* oder *Leitke* Nährböden auf ihre biologischen Eigenschaften geprüft und der quantitativen Agglutinationsprobe mit den oben genannten Sera unterzogen. Die Agglutination muß immer bis zur Titergrenze des Serums ausgeführt werden.

Choleravibrionen (Tafel XI, Fig. 2)

Die Choleravibrionen sind lebhaft bewegliche, etwas gekrümmte kurze mit verdünnten Anilinfarbstoffen leicht färbbare, gramnegative Stäbchen. Man sieht in den aus Reinkulturen gefärbten Präparaten oft mehrere Vibrionen zusammenliegen die dann Halbkreise oder S-förmige Figuren und besonders in älteren Kulturen auch schraubenartig gewundene Fäden bilden können.

Die Choleravibrionen sind streng aerob und wachsen leicht auf allen gebräuchlichen Nährböden besonders wenn sie gut alkalische Reaktion zeigen.

Auf Agar bilden sich nach 18- bis 24stündigem Verweilen bei 37° kleine, durchsichtige bei durchfallendem Licht bläulich irisierende Kolonien die sich bei Züchtungsversuchen aus den Faeces von den Kolonien der meisten in den Faeces vorkommenden Bakterien durch ihre eigentümliche Transparenz bei auffallendem Licht leicht unterscheiden lassen

Auf Gelatine zeigen sich die Cholera kolonien nach 24stündiger Züchtung bei 22° makroskopisch als kleinste helle Punktchen die sich bei schwacher Vergrößerung als kleine runde, glänzende Scheiben mit unregelmäßig gebuchteten und welligen Rändern präsentieren Die Oberfläche der Kolonien ist granuliert und stark lichtbrechend so daß sie wie mit kleinen Glasstückchen bestreut erscheint Die Gelatine wird langsam verflüssigt

In stark alkalischer Bouillon wachsen die Cholera vibronen sehr üppig unter gleichmäßiger Trübung und Bildung eines Oberflächenhäutchens. Milch wird nicht zur Gernnung gebracht Blutserum verflüssigt

Einen überaus günstigen Nährboden für Cholera vibronen wie für Vibronen überhaupt stellt alkalisches Peptonwasser dar (vgl. Kapitel XII) Es findet darin eine Anreicherung der Vibronen statt die sich schneller und reichlicher als die Begleitbakterien in der oberen Flüssigkeitsschicht entwickeln Schon nach sechsstündigem Wachstum bei 37° finden sie sich an der Oberfläche des Nährbodens häufig in Reinkultur

Fügt man einer 24stündigen Peptonwasserkultur der Cholera vibronen einige Tropfen konzentrierter chemisch reiner Schwefelsäure hinzu so tritt eine violettrote Färbung auf die beim Ausschütteln mit Amylalkohol in diesen übergeht (Cholera rotreaktion) Diese Farbstoffbildung beruht darauf daß die Bakterien aus den Eiweißkörper des Nährbodens Indol bilden und die in dem Nährsubstrat vorhandenen salpetereuren Salze zu Nitriten reduzieren Auf Zusatz von Schwefelsäure wird

salpetrige Säure frei die mit Indol den roten Farbstoff bildet (Nitrosoindolreaktion) Diese Reaktion ist aber keineswegs den Choleravibrionen eigentümlich sondern wird auch von anderen Vibrionenarten hervorgerufen.

Differentialdiagnostisch ist sie jedoch insofern zu verwerten als sie ein konstantes Kennzeichen der Choleravibrionen ist und infolgedessen ihr negativer Ausfall dagegen spricht daß die untersuchten Bakterien Choleravibrionen sind. Allerdings muß stets zur Kontrolle geprüft werden ob eine echte Cholerakultur in dem gleichen Peptonwasser die Rotreaktion gibt

Ein sehr günstiger Nährboden für Choleravibrionen ist der stark alkalische Blutagar nach *Dreudonné*.

Nachweis der Choleravibrionen in den Faeces

Zur mikroskopischen Untersuchung werden Schleimflocken aus den Faeces entnommen mit verdünntem Carbolfuchsin (1 : 10) gefärbt und nach Verreiben in Peptonwasser im hängenden Tropfen untersucht. Findet man hierbei typisch aussehende stark bewegliche Vibrionen so kann der Verdacht auf Cholera ausgesprochen werden. Wegen des häufigen Vorkommens choleraähnlicher Vibrionen in den Faeces ist zur Sicherung der Diagnose die kulturelle Untersuchung erforderlich

Kulturelle Untersuchung Man bringt 1 cm³ der Faeces in ein Kölbchen mit 50 cm³ Peptonlösung und legt ferner Plattenkulturen auf alkalischem Agar und *Dreudonné*-Nährboden nach der bei der Untersuchung der Faeces auf Typhusbacillen beschriebenen Methode an. Nach sechsstündiger Bebrütung bei 37° wird auch von der Oberfläche das Peptonwasser auf Agar und *Dreudonné*-Platten überimpft. Nach zwölfstündiger Bebrütung bei 37° werden die Platten untersucht Verdächtige Kolonien werden der Probeagglutination mit einem hochwertigen Immunsérum in einer Verdünnung von 1 : 100 unterzogen und bei positivem Ausfall in Reinkultur gezüchtet. Am fol

genden Tage wird mit der Reinkultur die quantitative Agglutinationsprobe und eventuell der *Pfeiffersche* Versuch angestellt. Mit der Peptonwasserkultur wird die Cholerarotreaktion vorgenommen. Die Vibrionen sind als Cholera vibrionen identifiziert wenn sie bis zu einer dem Titer des Serums nahekommenen Verdünnung agglutiniert und von den Bakteriolytinen einer homologen Immunsäure in der Versuchsanordnung des *Pfeifferschen* Versuches aufgelöst werden.

Tuberkelbacillen

Der Nachweis der Tuberkelbacillen in den Faeces geschieht mit Hilfe des gefärbten Ausstrichpräparates. Am leichtesten gelingt er in den Schleim und Eiterflocken diarrhoischer Entleerungen.

Sind Schleim und Eiter nicht nachweisbar so wird die Untersuchung mittels Antiforminmethode vorgenommen.

Diarrhoische Faeces werden mit gleichen Mengen 50%iger Antiforminlösung vermischt. feste Faeces werden zunächst mit Wasser verrieben und zum Absetzen grober Nahrungsreste in ein Spitzglas gegossen. Die über dem Sediment stehende trübe Flüssigkeit wird abgegossen und mit so viel Antiformin versetzt daß eine 25%ige Antiforminlösung entsteht. Die weitere Untersuchung erfolgt dann nach dem bei der Sputumuntersuchung geschilderten Verfahren.

Bei der Beurteilung des Befundes ist Vorsicht geboten. Abgesehen davon daß der negative Ausfall der Untersuchung natürlich in keinem Falle gegen die Diagnose Darmtuberkulose spricht, ist bei positivem Befund daran zu denken daß die Tuberkelbacillen mit verschlucktem Sputum in den Darm gelangt sein können. Ferner werden auch in den Faeces säurefeste Stäbchen gefunden, die keine Tuberkelbacillen sind. Zur Differentialdiagnose kann der Tierversuch herangezogen werden. Man verimpft Eiter und Schleim oder das zweimal mit sterilem Wasser ausgewaschene Antiforminsediment der Faeces auf Meerschweinchen.

Es handelt sich mit größter Wahrscheinlichkeit um Darmtuberkulose, wenn bei Kranken, die sicher kein Sputum heruntergeschluckt bei wiederholten Untersuchungen reichlich saurefeste Stäbchen vom Aussehen der Tuberkelbacillen im Schleim oder Eiter gefunden werden.

Staphylokokken und Streptokokken

Diese Bakterien finden sich in Faeces sowohl als Erreger akuter Darmkatarrhe als auch beim Durchbruch von Eiterung aus der Nachbarschaft in den Darm

Im ersteren Falle sind die Eitererreger in so großer Menge nachweisbar daß die normalerweise in den Entleerungen vorhandenen Mikroorganismen vollkommen zu rücktretzen

Ihr Nachweis geschieht mit Hilfe des mit verdünntem Carbolfuchsin und nach *Gram* gefärbten Präparates.

Milzbrandbacillen.

In den seltenen Fällen von Darmmilzbrand werden Milzbrandbacillen mit den Faeces ausgeschieden Ihr Nachweis gelingt mit Hilfe des Kulturverfahrens. Es werden Züchtungsversuche auf Agar gemacht die charakteristisch aussehenden Kolonien (vgl. Milzbrandkarbunkel) abgestochen in Reinkultur gezüchtet und zur Identifizierung auf weiße Mäuse überimpft

Pestbacillen

Die Pestbacillen sind in einzelnen Fällen in Darmentleerungen Pestkranker gefunden worden Ihr Nachweis gelingt mittels Tierversuches indem die Faeces in die rasierte Bauchhaut von Meerschweinchen eingerieben werden (vgl. Pestbacillen im Sputum)

VII Kapitel

Die Untersuchung des Harnes

I Die Entnahme des Harnes.

Man sammelt gewöhnlich die 24stündige Menge in sauberen mit heißem Wasser ausgespülten Gefäßen. Um die Zersetzung des Harnes zu vermeiden empfiehlt es sich

einen bohngroßen Kristall Thymol zuzusetzen*) Wird der Harn trotzdem schnell zersetzt und zeigt eine stark ausgesprochene alkalische Reaktion so empfiehlt es sich außer der 24stündigen Menge eine frisch gelassene Portion Urin zur Untersuchung einzuliefern. In manchen Fällen ist es notwendig, verschiedene Fraktionen des Harnes getrennt zu untersuchen bei Nierenaffektionen wird man den Morgenharn und Abendharn bei leichten Fällen von Diabetes oder alimentärer Glycosurie den Harn vor und nach der Mahlzeit getrennt untersuchen bei Verdacht auf Bestehen einer orthostatischen Albuminurie wird man den im Liegen entleerten Morgenharn und den nach dem Aufstehen ausgeschiedenen Harn auf seinen Eiweißgehalt untersuchen müssen Bei Erkrankungen der Harnröhre und der Blase wird zu differentialdiagnostischen Zwecken der Harn einer Entleerung (am besten der erste Morgenurin) in zwei oder drei Gefäße aufgefangen und jede Fraktion getrennt auf ihre physikalische und chemisch mikroskopische Beschaffenheit untersucht. Die Ureterenkatheterisation ermöglicht, den Harn jeder Niere zu isolieren und auf diese Weise bei einseitigen Affektionen mit Sicherheit zu bestimmen welches von beiden harnabsondernden Organen ergriffen ist Bei der Entnahme des Harnes soll in allen Fällen dafür gesorgt werden daß keine zufälligen Beimischungen (Sputum Menstrualblut Sperma usw.) in den Harn gelangen.

Über die Entnahme des Harnes zur bakteriologischen Untersuchung vgl. dieses Kapitel.

II Die chemische Zusammensetzung des Harnes

Die Zusammensetzung des Harnes ist auch unter normalen Verhältnissen nicht geringen Schwankungen unterworfen da verschiedene Lebensbedingungen wie z. B. die

*) Die Anwendung von anderen konservierenden bzw. desinfizierenden Substanzen, wie Sublimat, Chloroform, Carbolsäure usw., ist nicht zu empfehlen, da sie entweder bei der chemischen oder mikroskopischen Untersuchung störend wirken

Art der Nahrung die körperlichen und geistigen Anstrengungen auf die chemische Beschaffenheit des Harnes einen großen Einfluß ausüben. Zur allgemeinen Orientierung können daher nur Durchschnittswerte angegeben werden. Nach *Hammarsten* werden von erwachsenen normalen Menschen in 24 Stunden etwa 1500 cm^3 Harn ausgeschieden worin ungefähr 60 g feste Stoffe enthalten sind darunter

Organische Substanzen	35 0 g
Anorganische Substanzen	25 0 g

Die organischen Substanzen bestehen aus

Harnstoff	etwa 30·0 g
Harnsäure	0 7 g
Kreatinin	1 5 g
Hippursäure	0·7 g
Übrige organische Stoffe	2 1 g

Diese letzteren setzen sich beim gesunden Menschen zusammen aus sehr geringen Mengen von Purinbasen Oxalsäure flüchtigen Fettsäuren Milchsäure Bernsteinsäure Oxyproteinsäure, Kohlenhydraten Glycerinphosphorsäure Verbindungen der Schwefelsäure mit Phenol, Kresol, Indoxyl Skatoxyl. Außerdem finden sich Harnfarbstoffe Fermente und Substanzen unbekannter Zusammensetzung

Die anorganischen Substanzen bestehen aus

Kochsalz Na Cl	etwa 15 0 g
Schwefelsäure $\text{H}_2 \text{SO}_4$	2 5 g
Phosphorsäure $\text{P}_2 \text{O}_5$	2 5 g
Salpetersäure HNO_3	unter 0·1 g
Natron $\text{Na}_2 \text{O}$	7 9 g

(als Bestandteil des Kochsalzes schon bei demselben mitberechnet)

Kali $\text{K}_2 \text{O}$	3 3 g
Ammoniak NH_3	0·7 g
Kalk Ca O	0·8 g
Magnesia Mg O	
Eisen Fe	unter 0·01 g

Bei verschiedenen krankhaften Zuständen können im Harn noch folgende Stoffe gefunden werden

I Eiweißstoffe (Albumine Albumosen Nucleoproteide) Traubenzucker Aceton Acetessigsäure β Oxybuttersäure, Milchsäure Fruchtzucker Pentosen Cystin Leucin Tyrosin Alkaptonsäuren Gallenfarbstoffe Gallensäuren Blutfarbstoff Melanin Schwefelwasserstoff. Außerdem gilt die Vermehrung mancher normalen Bestandteile wie z. B. des Indikans (Indoxylschwefelsäure) als pathologische Erscheinung. Außer den erwähnten können im Harn noch zufällige Bestandteile auftreten. Hierher gehören hauptsächlich diejenigen Stoffe die dem Körper als Arzneimitteln zugeführt werden. Die wichtigsten von ihnen sind im Kapitel VII angeführt

III Die Identifizierung einer Flüssigkeit als Harn

In der ärztlichen Praxis wird es in einzelnen Fällen notwendig sein eine zur Untersuchung eingesandte Flüssigkeit mit Sicherheit als Harn identifizieren zu können. Der Arzt wird dazu in manchen Fällen durch den Verdacht einer zufälligen oder absichtlichen Verwechslung seitens des Patienten veranlaßt werden. In anderen Fällen wird die Feststellung einer Flüssigkeit als Nierensekret zu differentialdiagnostischen Zwecken unentbehrlich sein. Das letztere gilt besonders für Punktionsflüssigkeiten welche aus der Nierengegend gewonnen sind. In solchen Fällen handelt es sich meist um eine Differentialdiagnose zwischen Hydronephrose cystischen Tumoren und Echinokokkus.

Um eine Flüssigkeit als Harn anzuerkennen müssen in ihr einige nur für den Harn charakteristische Bestandteile nachgewiesen werden. Von den vielen organischen und anorganischen Bestandteilen des Harnes werden Harnstoff und Harnsäure als charakteristische angesehen. Ihre gleichzeitige Anwesenheit in einer Flüssig-

keit wird als genügender Beweis zu ihrer Anerkennung als Nierensekret betrachtet. Gelingt noch der Nachweis eines dritten Bestandteiles des Harnes des Kreatinins so ist die untersuchte Flüssigkeit mit Sicherheit als Harn identifiziert. Der Nachweis der genannten Bestandteile des Harnes geschieht in folgender Weise

Harnstoff (Karbamid) — $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ Man dampft 25 bis 50 cm^3 der Flüssigkeit in einer Porzellanschale bis zu leichtem Sirup ein. Nach dem Erkalten gibt man einige Kubikzentimeter konzentrierter Salpetersäure zu wobei ein kristallinischer Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff entsteht. Bei der mikroskopischen Untersuchung der kristallinen Masse sieht man typisch auf einandergelagerte rhombische Tafeln.

Harnsäure (2- 6- 8-Trioxypurin) — $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_6$ Einige Kubikzentimeter der Flüssigkeit werden mit Ammoniumchlorid gesättigt (auf je 2 cm^3 0.5 g) und zwei bis drei Stunden stehen gelassen. Hierauf wird abzentrifugiert die Flüssigkeit abgegossen und mit dem Sediment die Murexidprobe ausgeführt. Man bringt das Sediment auf ein Porzellanschälchen, vermischt es mit zwei bis drei Tropfen konzentrierter Salpetersäure, erhitzt vorsichtig bis die Salpetersäure verdampft ist. Der trockene Rückstand ist gewöhnlich ziegelrot gefärbt. Nach Zusatz von einem Tropfen Natronlauge tritt eine violette von Ammoniak eine purpurrote Farbe auf. Die zu untersuchende Flüssigkeit darf für diese Probe nicht stark sauer reagieren. Ist es der Fall so wird mit einer geringen Sodamenge neutralisiert.

Kreatinin — $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ Man versetzt 10 bis 15 cm^3 der Flüssigkeit mit einigen Tropfen einer frisch bereiteten konzentrierten Natriumnitroprussidlösung und fügt tropfenweise 10% Natronlauge hinzu. Wenn Kreatinin zugegen ist so nimmt die Flüssigkeit eine schön rubinrote Farbe an. Nach Zusatz von Essigsäure (bis zur sauren

Reaktion) verschwindet die rote Färbung momentan (Unterschied von Aceton)

IV Allgemeine Eigenschaften des Harnes

Farbe. Der normale Harn zeigt alle Abstufungen der Farbe zwischen Bläßgelb und Rotbraun und unter sonst gleichen Verhältnissen ist in der Norm die Farbe von der Konzentration in proportionaler Weise abhängig. Beim Stehen an der Luft dunkelt gewöhnlich der normale saure Urin etwas nach was wahrscheinlich durch den Übergang der Chromogene in Farbstoff infolge Oxydation hervorgerufen wird. Die Farbe des normalen Harnes ist durch rötliche und gelbe Farbstoffe bedingt. Zu den ersteren gehören Uroethrin Urorosein Indigorot der gelbe Farbstoff Urochrom bildet nach Weiss nur 25% der Harnfarbstoffe. Ein Teil der Farbstoffe wird in Form von Chromogenen ausgeschieden. Eine abnorme Farbe des Harnes kann entweder durch im Organismus entstandene und in den Harn übergegangene Farbstoffe oder durch Substanzen die infolge des Gebrauches von Arzneien und Nahrungsmitteln in den Harn gelangt sind. Zu den abnormen Farbstoffen des Urins gehören

a) **Blutfarbstoff** — der Urin ist von hellrosarot (Fleischwasser) bis Braunschwarz gefärbt.

b) **Gallenfarbstoffe** — der Urin hat eine gelbgrüne bis bierbraune Farbe.

c) **Melanin** — ruft eine dunkelbraune bis schwarze Färbung hervor der frisch gelassene Harn enthält nur Melanogen und ist nicht intensiv gefärbt das Pigment bildet sich allmählich beim Stehen an der Luft oder bei Zusatz von Oxydationsmitteln

d) **Alkapton** — bedingt besonders bei längerem Stehen eine braune bis braunschwarze Farbe.

e) Durch den Gebrauch von Arzneien und durch Nahrungsmittel entstehen folgende Veränderungen der Farbe des Urins

Une braungelbe bis brannschwarze Färbung nach innerlicher oder äußerlicher Anwendung von Carbonsäure Salicylsäurepräparaten Kresol Brenzkatechin Teer Folia uvae ursi und ähnlichen Präparaten welche als gepaarte Schwefelsäureverbindungen durch den Harn ausgeschieden werden

Une goldgelbe oder citronengelbe Farbe bei saurer und eine hellrote bei alkalischer Reaktion besitzt der Urin nach innerem Gebräuche von Rhenm Senna Cascara sagrada Chrysarobin und ähnlichen Präparaten welche Chrysophansäure enthalten Eine grünlische oder safrangelbe Farbe bei saurer und rote bei alkalischer Reaktion entsteht nach innerem Gebräuche von Santonin.

Autipyrin Sulfonal und Trional verursachen eine gelb- bis blutrote Färbung

Nach innerem Gebräuch von Methylenblau ist der Urin blau oder grün gefärbt

Durchsichtigkeit. Der normale Urin enthält seine sämtlichen Bestandteile in gelöstem Zustande der frisch gelassene normale Harn ist daher vollkommen klar und durchsichtig Nur eine ganz geringe Menge eiweiß und mucinartiger Substanzen die von der Oberfläche der Blasen und Harnröhrenschleimhaut stammen finden sich in aufgequollenem Zustande und scheiden sich beim Stehen als kleines Wölkchen — Nubekula — aus das allmählich zu Boden sinkt.

Wird der Harn schon trübe entleert oder tritt die Trübung bald nach der Entleerung auf so kann es sich schon um abnorme oder pathologische Verhältnisse handeln Jedenfalls muß in jedem einzelnen Falle die Ursache der Trübung festgestellt werden da es für die Diagnose und Therapie von großer Bedeutung ist

Die Trübung des Urins kann durch folgende Ursachen bedingt sein

1 Im Urin sind Harnsalze suspendiert

2 Der Urin enthält viele zellige Beimischungen aus den Harnwegen (Blut Eiterkörperchen Epithelien)

3. Die Trübung kann durch Bakterien bewirkt sein

4 Eine milchige Trübung kann durch emulgiertes Fett entstehen (Chylurie Lipurie)

Um sich über die Ursache der Trübung zu orientieren ist es ratsam folgendermaßen systematisch vorzugehen

a) Man erwartet zunächst eine Probe des Harnes im Reagenzglas vorsichtig über der Flamme. Klärt sich der Urin so war die Trübung durch harnsaure Salze bedingt sie bilden bekanntlich einen sehr häufigen Befund und scheiden sich beim Stehen als ziegelmehlartiges Sediment (*Sedimentum lateritium*) ab. Wenn diese uratische Trübung sich mit andersartigen kombiniert (meist zelligen Elementen) so erzielt man beim Erwärmen keine vollkommene Klärung sondern nur eine leichte Aufhellung der Flüssigkeit die sogar bei fortgesetzter Erhitzung einer erneuten Trübung (durch Ausfall von Eiweiß) Platz machen kann.

b) Hat das Erwärmen keine Veränderung in der Trübung hervorgerufen so versetzt man den Urin mit 10 bis 15 Tropfen Essigsäure. Bewirkt dies eine völlige oder teilweise Klärung so ist die Trübung hauptsächlich durch phosphorsaure Salze bedingt. Der Harn wird sehr oft nicht vollkommen klar weil es sich in solchen Fällen meist um alkalisch reagierende und in Zersetzung begriffene Harnen handelt die außerdem meist noch zahlreiche Bakterien oder zellige Beimischungen enthalten. Hat auch Essigsäure keinen Einfluß so wird

c) Salzsäure zugesetzt verschwindet jetzt die Trübung so war sie von oxalsaurem Kalk bedingt

d) Bleib die Trübung nach der Anwendung dieser drei Proben unbeeinflusst so wird der Urin zunächst mit Natron

lange (10%ige Lösung) versetzt und geschüttelt. Wenn dabei an Stelle der Trübung gelatinöse Transparenz auftritt so war Eiter die Ursache der Trübung (Eiterprobe von *Donné*). Diese Probe beruht auf der Eigentümlichkeit der Eiterkörperchen unter dem Einflusse von Alkali aufzuquellen und eine zusammenhängende gallertige Masse zu bilden.

c) Ist die Trübung durch Fett bedingt so klärt sich nach dem Ausschütteln mit Alkoholäther der Urin vollkommen auf.

Wenn die Trübung des Urins allen genannten Prozeduren widersteht so handelt es sich höchstwahrscheinlich um eine bakterielle Trübung. In solchen Fällen ist der Urin gleichmäßig getrübt er bildet beim Stehen kein sichtbares Sediment und bleibt auch meist nach mehrfachem Filtrieren trübe. Bringt man einen derartigen Harn in ein Reagensglas und betrachtet ihn bei durchfallendem Lichte so kann man bemerken daß beim leichten Aufschütteln die Trübung einen schillernden wellenartigen Charakter besitzt.

Am schnellsten und einfachsten orientiert man sich über die Ursache der Trübung durch die mikroskopische Untersuchung des Zentrifugats.

Reaktion. Die Reaktion des Harnes kann sauer, amphoter oder alkalisch sein. Der normale Urin reagiert meist sauer. Seine Acidität ist nicht durch die Gegenwart freier Säure sondern durch sauer reagierende Salze hauptsächlich durch zweifach-saures phosphorsaures Natrium (Mononatriumphosphat) bedingt. Außer den sauren Phosphaten sind im normalen Urin auch alkalisch reagierende Phosphate vorhanden. Ihre Menge ist gewöhnlich im Vergleich mit den sauren Phosphaten nur gering und dadurch kommt nur die saure Reaktion zum Vorschein.

Sind die alkalisch reagierenden Phosphate vermehrt so entsteht eine amphotere oder alkalische Reaktion. Als amphotere bezeichnet man die Reaktion dann wenn der

Urin gleichzeitig schwach alkalisch und schwach sauer reagiert das bedeutet daß die sauer und alkalisch reagierenden Phosphate im Urin in solchem Mengenverhältnisse vorhanden sind daß sie mit gleicher Kraft ihre Reaktion äußern. Alkalische Reaktion entsteht im Harn bei vorwiegendem Gehalt an basischen Phosphaten

Bei pathologischen Zuständen oder beim Stehen in unreinen Gefäßen kann der Harn eine alkalische durch Zersetzung hervorgerufene Reaktion erhalten. Die alkalische oder ammoniakalische Gärung des Urins besteht in einer Umwandlung des Harnstoffes in kohlen-saures Ammon die durch Mikroorganismen (*Micrococcus ureae* *Proteus vulgaris* Hausserl u a) herbeigeführt wird. Der Harn bekommt dabei einen unangenehmen ammoniakalischen Geruch und trübt sich durch Ausscheidung von phosphorsauren alkalischen Erden phosphorsaurer Ammoniakmagnesia harnsaurem Ammon und kohlen-saurem Kalk.

Man bestimmt die Reaktion des Urins in üblicher Weise mittels Lackmuspapier. Bei saurer Reaktion färbt sich das blaue Lackmuspapier rot bei alkalischer das rote blau, bei amphoterer sind beide Reaktionen gleichmäßig ausgesprochen. Bei ammoniakalischer Zersetzung des Urins verschwindet die blaue Farbe des Lackmuspapiers beim Trocknen an der Luft. Außerdem charakterisiert sich ein ammoniakalischer Urin dadurch daß ein darüber gehaltener mit Salzsäure benetzter Glasstab weiße Nebel bildet (Salmiak)

Für die Bestimmung der Acidität (Säuregrad) des Harnes ist eine Reihe zum Teil komplizierter Methoden angegeben worden. In der klinischen Praxis kann man sich mit der einfachen Methode der Titration mit 0.1 n Natronlauge begnügen. Man muß mit einer Pipette 10 cm³ des filtrierten Urins bringt sie in ein Becherglas setzt etwa 20 bis 30 cm³ destillierten Wassers und einen bis zwei Tropfen einer 1%igen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert

mit 0.1 n Natronlauge bis zur bleibenden Rosafärbung. Man bezeichnet die Acidität durch die Zahl der Kubikzentimeter 0.1 n NaOH die zur Neutralisation von 100 cm³ Harn erforderlich sind. Der normale Harn zeigt eine Acidität von 25 bis 40 auf 100. Diese Titrationsmethode liefert jedoch keine richtige Vorstellung über den wahren Säuregrad des Harnes. Er wird nur durch

Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration fest gestellt.

Der wesentliche Unterschied zwischen dem Titrationsverfahren und dieser Methode besteht darin, daß die Titration nur feststellt, wieviel Alkali notwendig ist, um eine bestimmte Menge Saure oder saure Salze zu neutralisieren. Sie besagt nichts über die Stärke der Saure. Dies läßt sich am besten an einem Beispiel erläutern: Die Salzsäure ist als sehr starke Saure in ihren nicht so konzentrierten Lösungen völlig in ihre Ionen zerfallen $\text{HCl} = \text{H} + \text{Cl}$. Eine äquimolekulare Lösung der viel schwächeren Essigsäure ist nur zu einem sehr geringen Anteil in Ionen aufgespalten: auf 1000 Moleküle Essigsäure CH_3COOH sind nur 4 Moleküle dissoziiert in CH_3COO und H . Da nur die freien H Ionen das Maß für den Säuregrad abgeben, so ist die Salzsäure 250mal stärker als die Essigsäure ($1000:4 = 250$). Diese Tatsache kann durch Titration nicht festgestellt werden, da dabei für beide Säuren die gleichen Mengen Alkali verbraucht werden (während der Titration der Essigsäure entstehen nach der Neutralisation der freien H Ionen durch Dissoziation immer neue H Ionen, bis alle nicht dissoziierten Moleküle erschöpft sind). Nur die direkte Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration stellt fest, wieviel aktuelle Saure vorhanden ist. Bei der Titration wird die Summe der aktuellen und potentiellen Saure ermittelt.

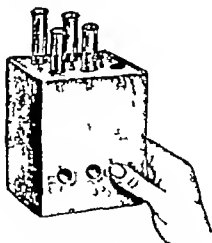
Das Maß für die H Ionenkonzentration wird nach dem Gesetz vom „Löslichkeitsprodukt“ bestimmt. Dieses Gesetz besagt, daß immer dann, wenn eine Lösung bei bestimmter Temperatur mit zwei zueinander gehörigen Ionen gesättigt ist, das Produkt dieser Ionen einen konstanten Wert zeigt. Dieser Wert beträgt für H und OH Ionen (Saure und Alkaliionen) bei 18° C 0.84×10^{-14} . Dieser Wert gilt sowohl für reines Wasser wie für in Wasser gelösten H und OH Ionen. Ist die Lösung vollständig neutral, d. h. die Zahl der H und OH Ionen gleich, so beträgt der Wert der H Ionen 0.8×10^{-7} . Wird jetzt die Zahl der H Ionen durch Zusatz einer Saure vermehrt, so geht die Zahl der OH Ionen derart zurück, daß das Produkt immer wieder 0.84×10^{-14} ist. Ähnliches geschieht, wenn man zu einer neutralen Lösung OH Ionen hinzufügt. Es vermindert sich dementsprechend die Zahl der H Ionen. Es ist daher üblich, die Ionenkonzentration nach den H Ionen zu bezeichnen, da die Menge der OH Ionen darnach leicht zu berechnen ist. Zur größeren Übersichtlichkeit bezeichnet man die H Ionenkonzentration ph in der Weise, daß man nur den betreffenden Exponenten unter Weglassung des stets negativen Vorzeichens schreibt. Auf diese Weise bedeutet $\text{ph} = 7.1$ eine neutrale Lösung. Zahlen unter 7.1 bezeichnen den Säuregrad, Zahlen über 7.1 den Alkaligrad.

Die einfachste und für klinische Zwecke bequemste Methode zur Bestimmung des pH ist die Indikatorenmethode.

Sie beruht darauf daß bestimmte Indikatoren den Farbumschlag bei bestimmten pH Konzentrationen geben Es wird also festgestellt welcher Indikator für die zu untersuchende Lösung am passendsten ist.

Man benutzt für die Ausführung der Indikatorenmethoden am besten die von *Leonor Michaelis* angegebene

Fig 21



Komparator nach Michaelis

Apparatur Sie besteht aus einem Komparator (Fig 21) mit Matt und Blauscheibe und vier Indikatorreihen (Fig 22) und zwar

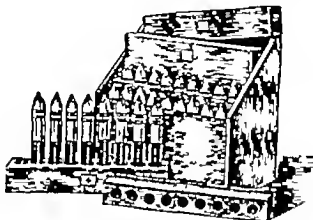
- | | | |
|----|---|-------------------------|
| 1 | Reihe mit Metanitrophenol für pH | |
| | Messungen | von 8.4 bis 6.8 |
| 2. | Paranitrophenol für | $\text{pH} = 7.0$ „ 5.4 |
| 3 | γ Dinitrophenol für | $\text{pH} = 5.4$ „ 4.0 |
| 4 | α Dinitrophenol für | $\text{pH} = 4.4$ „ 2.8 |

Zu jedem dieser vier Indikatoren wird noch eine Stammlösung geeigneter Konzentration geliefert

Die Ausführung einer pH-Messung geschieht folgenderweise

Der zu untersuchende Harn wird zunächst wenn nötig mit destilliertem Wasser etwas verdünnt bis nur eine schwache Färbung oder Trübung erreicht ist. (Die Verdünnung ändert bei sogenannten „gepufferten“ Lösungen [wie Harn-Nährböden] die pH-Konzentration nicht da infolge der Pufferung neue H-Ionen bei der Verdünnung frei werden)

Fig. 22



1. Indikator-dauerreihen.

Feste Nährböden werden für die Untersuchung geschmolzen dann mit etwa zwei Teilen Wasser verdünnt und weiter wie Flüssigkeiten untersucht

Man nimmt vier Reagensgläser welche das gleiche Kaliber haben wie die Indikator-dauerröhrchen. Nr. 1 und 2 füllt man mit je 6 cm^3 des zu untersuchenden verdünnten Harnes und steckt sie in das Loch 1 und 2 des Komparators. Zu Nr. 1 gibt man noch genau 1 cm^3 des geeigneten Indikators (von der Stammlösung) in Nr. 2 ebensoviel destilliertes Wasser. In das Loch 4 steckt man ein Glas mit einer beliebigen Menge Wasser. Nun probiert man aus welches Röhrchen der Dauerreihe des betreffenden Indikators man in das Loch Nr. 5 zu stecken hat damit beim Durchblick

durch die Gucklöcher die gleiche Farbe entsteht. Die Löcher Nr. 3 und 6 kann man wenn man will in ähnlicher Weise wie 1 und 2 benutzen. benutzt man sie nicht so verschließt man das Guckloch mit dem Daumen und benutzt es als Handgriff. Sobald man das farbgleiche Röhrchen ermittelt hat liest man ρ_H am Etikett des Dauerröhrchens ab. Die Methode eignet sich nur für gut gepufferte Flüssigkeiten wie Harn und Nährböden.

Spezifisches Gewicht. Das spezifische Gewicht des Harnes schwankt unter physiologischen Verhältnissen in weiten Grenzen zwischen 1.005 bis 1.030 und ist in erster Linie von der Wasserzufuhr und Wasserabgabe durch andere Organe abhängig.

Man bestimmt am einfachsten das spezifische Gewicht mittels zweier Spindelareometer mit Teilungen von 1000 bis 1025 und 1025 bis 1050. Ein ziemlich weites Zylinderglas wird bis vier Fünftel mit dem zu untersuchenden Urin gefüllt, die abgetrocknete Spindel darin vollständig eingesenkt*). Man liest dann an der Skala den Grad ab bis zu welchem die Spindel einsinkt. Ist die Spindel zu tief (über die Skala) eingesunken oder taucht sie nicht bis zur Skala ein, so muß das spezifische Gewicht mit der zweiten Spindel bestimmt werden. Bei genaueren Bestimmungen muß die Temperatur berücksichtigt werden. Die Spindelareometer sind gewöhnlich auf 15° geeicht. Ist die Temperatur des Urins höher, so muß für je drei Temperaturgrade ein Grad (0.001) dem abgelesenen Werte zugegeben, bei Temperaturen unter 15°C in derselben Weise abgezogen werden.

Aus dem spezifischen Gewicht des Harnes kann annähernd die Gesamtmenge der festen Bestandteile berechnet werden. Nach *Haeser* multipliziert man zu diesem Zweck die letzten zwei Stellen des auf drei Dezimalen bestimmten spezifischen Gewichtes mit 0.233. Ist das spezi

*) Die nicht selten störenden Schaumblaschen werden mit Filterpapier entfernt.

fische Gewicht eines Harnes z. B. 1 025 so sind in demselben $25 \times 0.233 = 5.825\%$ feste Bestandteile vorhanden

Der Gefrierpunkt des Harnes. Schon im 18. Jahrhundert (1788) hat *Blagden* nachgewiesen, daß zwischen den Temperaturen bei welchen Salzlosungen erstarren, und dem Gehalt dieser Lösungen an gelösten Stoffen eine einfache Beziehung existiert und zwar daß beide proportional sind. Diese Arbeit ist aber völlig in Vergessenheit geraten. Erst als *Raoult* und *van t Hoff* für diese Tatsachen einfache Gesetze gefunden hatten, wurde sie wissenschaftlich verwertet. Diese Gesetze lauten

1. *Aquimolekulare Lösungen*, das heißt solche Lösungen, deren Gehalt im Verhältnis der Molekulargewichte der gelösten Stoffe steht, haben gleiche Gefrierpunkte

Beispiel. Das Molekulargewicht des Traubenzuckers ($C_6H_{12}O_6$) beträgt 180 des Harnstoffes (CON_2H_4) 60. Eine Lösung, welche 180 g Traubenzucker im Liter enthält, und eine Lösung, welche 60 g Harnstoff im Liter enthält, werden einen gleichen Gefrierpunkt zeigen. Darans folgt daß der Gefrierpunkt nicht (wie das spezifische Gewicht) von der Masse der gelösten Stoffe sondern von der Zahl der gelösten Moleküle bedingt wird und daher als Maß für die molekulare Konzentration der Lösung betrachtet werden kann.

2. *Der Gefrierpunkt der Lösung ist dem osmotischen Druck derselben proportional.*

In der Klinik ist die Bestimmung des Gefrierpunktes des Harnes und des Blutes zuerst durch *Kordans* eingeführt worden und hat in kurzer Zeit eine ziemlich ausgiebige Verwendung besonders bei der funktionellen Nierendiagnostik gefunden.

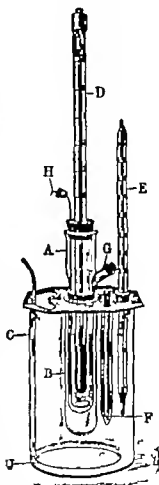
Die klinische Bedeutung der Gefrierpunktbestimmung des Harnes beruht auf der Tatsache daß bei normalen Verhältnissen beide Nieren in jeder Zeiteinheit einen Harn von gleicher molekularer Konzentration, d. h. von derselben Gefrierpunktserniedrigung ausschcheiden. Ist eine Niere erkrankt, so ist sie nicht imstande, sämtliche ihr von dem Blute zugeführten Moleküle auszuschcheiden, und es wird daher von dieser Seite ein verdünnter Harn abgesondert. Die molekulare Konzentration des Harnes wird also auf der kranken Seite eine geringere sein als auf der gesunden, was durch die Bestimmung des Gefrierpunktes festgestellt werden kann. Selbstverständlich muß für diese Untersuchung der Harn jeder Niere getrennt aufgefangen werden, was durch Ureterenkatheterisation erreicht wird.

Zur praktischen Ausführung der Bestimmung des Gefrierpunktes des Harnes dient am besten der *Beckmannsche* Apparat (Kryoskop). Der Apparat besteht aus folgenden Teilen. Das Glas *A* (Fig. 23) enthält ein in Hundertstel Grade geteiltes Thermometer *D* und einen aus Platindraht gebogenen Rührer *H*. Dieses Glas ist in ein etwas weiteres Glas *B* welches als Luftmantel dient gesetzt. Letzteres ist im Deckel eines starken großen Gefäßes *C* befestigt. Im Deckel des großen Glases sitzen noch außerdem 1. ein gewöhnliches Thermometer *E* zur Bestimmung der Temperatur

der Kältemischung 2. ein Röhrchen mit dem Impfstift *F* Mittels des starken Rührers *J* wird die Temperatur der Kältemischung gleichmäßig erhalten. Die Ausführung der Gefrierpunktsbestimmung des Harnes geschieht folgendermaßen. Das Gefäß *C* wird mit einem Gemisch von Wasser Eis und Kochsalz bis zu drei Viertel gefüllt. Die Temperatur der Kältemischung darf nicht niedriger als -5 bis -6°C sein. In das Gefäß *A* bringt man den zu untersuchenden Harn. Die Menge desselben soll so groß sein daß sie gerade ausreicht das Quecksilberreservoir des Thermometers *D* vollkommen zu umgeben. Um ein gleichmäßiges Erkalten des Harnes zu erreichen wird die Kältemischung und der Harn mittels der Rührer *H* und *J* stets umgerührt. Der Moment des Erstarrens des Harnes wird dadurch gekennzeichnet daß die bisher sinkende Quecksilbersäule des Thermometers plötzlich in die Höhe steigt und auf einem Punkte stehen bleibt. Der Stand des Thermometers wird mittels einer Lupe abgelesen.

Das Steigen der Quecksilbersäule wird dadurch bedingt daß die Flüssigkeit vor dem Erstarren immer ein wenig überkühlt wird und das Thermometer daher unter den Gefrierpunkt fällt. Sobald die Flüssigkeit erstarrt wird sie auch gleichzeitig bis zur Temperatur des Gefrierpunktes erwärmt und daher das Steigen der Quecksilbersäule bis zum Gefrierpunkt. Es passiert nicht selten daß die Flüssig-

Fig 23



keit ungeachtet ihrer starken Überkältung nicht erstarren. In solchen Fällen bedient man sich des Impfstiftes *F* mittels dessen man durch das Seitenröhrchen *G* ein Stückchen Eis in die Flüssigkeit hineinbringt. Das Erstarren erfolgt sofort in dem Moment in dem das Eis mit dem Harn in Berührung kommt. Da das *Beckmannsche* Thermometer keinen konstanten Nullpunkt besitzt so muß er durch Bestimmung des Gefrierpunktes des destillierten Wassers festgestellt und oft kontrolliert werden letzteres gilt auch für die Apparate die konstante Nullpunkte haben weil wie die Erfahrung zeigt auch bei diesen mit der Zeit die Nullpunkte bedeutend verschoben werden und mit den auf der Skala bezeichneten nicht mehr übereinstimmen.

Bei der Anschaffung eines Kryoskops für klinische Zwecke ist darauf zu achten daß das Gefäß *A* nicht zu weit ist da sonst Bestimmungen mit kleinen Harnmengen nicht ausführbar sind. Mit richtig konstruierten Apparaten läßt sich noch mit 5 bis 6 cm^3 Harn eine genaue Gefrierpunktsbestimmung ausführen.

Die Bestimmungen müssen immer zweimal ausgeführt werden. Der Unterschied zwischen beiden darf nicht größer als 0.01°C sein.

Menge. Die Tagesmenge (24stündige) des Urins ist schon unter physiologischen Bedingungen eine äußerst variable Größe. Wasserzufuhr und Wasserausscheidung durch die Haut und Lungen. Genuß von daureich wirkenden Mitteln (Alkohol, Tee Kaffee) Muskeltätigkeit psychische und andere Momente beeinflussen sehr bedeutend die Harnsekretion und wirken dadurch auf die Größe der in 24 Stunden ausgeschiedenen Urinmenge. Durchschnittlich beträgt sie bei einem gesunden Manne 1500 cm^3 (von 1200 bis 1800) bei Frauen 200 bis 300 cm^3 weniger.

Eine pathologische Vermehrung der Harnmenge (bis zu 10 l) findet man bei Diabetes mellitus und Diabetes insipidus ferner bei Schrumpfnieren bei Amyloidnieren bei

manchen Nervenleiden (Hysterie, Neurasthenie) Eine verminderte krankhafte Harnabsonderung findet man bei allen akuten Infektionskrankheiten bei akuter Nephritis bei Diarrhöe Cholera bei Leberatrophie bei akuten Magen und Darmkatarrhen bei Herzfehlern mit Stauungserscheinungen bei manchen Vergiftungen

Normalerweise steht die Menge des Urins im umgekehrten Verhältnisse zu seinem spezifischen Gewicht Zur Bestimmung der Tagesmenge sammelt man gewöhnlich den Urin in einem großen Glasgefäß schüttelt gut durch und mißt das Volumen in einem gradulierten Meßzylinder Um die Zersetzung des Urins durch Bakterien zu vermeiden, empfiehlt es sich ein bohngro es St ck (nicht pulverisiertes) Thymol zuzufügen. Das Gewicht des Urins läßt sich sehr einfach aus dem gemessenen Volumen umrechnen indem das letztere mit dem spezifischen Gewicht multipliziert 1500 cm^3 Urin z. B. vom spezifischen Gewicht 1.025 würden $1500 \times 1.025 = 1537.5 \text{ g}$ wiegen

Geruch. Der normale Harn besitzt einen eigentümlichen an Fleischbros erinnernden aromatischen Geruch Unter normalen Verhältnissen kann sich dieser Geruch nach Einnahme mancher Genuß- und Arzneimittel verändern. So erhält der Harn nach Genuß von Spargel oder Knoblauch einen widerlichen Geruch nach Einnahme von Terpent l, Eukalypt l oder Myrt l einen Veilchengeruch nach Einnahme von Kopalva balsam Cubeben Safran einen gew rzigen nach Menthol einen Pfefferminzgeruch.

Bei pathologischen Zuständen findet man einen ausgesprochenen Obstgeruch bei schwerem Diabetes (durch Acetessigsäure bedingt) einen fauligen j nchigen Geruch bei Anwesenheit von zersetztem Eiter oder Blut einen Geruch nach faulen Eiern bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff einen f kulenten Geruch bei Beimischung von Kot zum Harn (rekto-vesikale Fistel)

V Die chemische Untersuchung der pathologischen und abnormen Bestandteile des Harnes

Elweißkörper im Harn

Der normale Urin ist eiweißfrei. Die ganz geringen Mengen von Eiweiß die aus großen Urinmengen sich gewinnen lassen (nach *B. Minz* handelt es sich um 0.3 bis 0.6 mg%) kommen bei der klinischen Harnuntersuchung nicht in Betracht da sie durch die gewöhnlichen Eiweißreaktionen nicht nachweisbar sind.

Nach der chemischen Beschaffenheit der Eiweißkörper unterscheiden wir drei Typen von Albuminurien.

1. Ausscheidung von Eiweißkörpern des Blutsersums (Serumeiweiß). Das ausgeschiedene Eiweiß stammt aus dem Blutserum und besteht aus Serumalbumin, Serumglobulin und anderen Serumeiweißsubstanzen. Hierher gehören die nephritischen Albuminurien.

2. Ausscheidung von Albumosen und Peptonen.

3. Ausscheidung von sogenanntem Essigseiweiß d. h. Eiweißkörpern die durch Essigsäure in der Kälte ausgefällt werden. Diese Eiweißsubstanzen treten konstant bei der sogenannten orthostatischen bzw. lordotischen sowie bei physiologischen Albuminurien auf. Dagegen findet man sie nicht bei chronischen Nephritiden. Ihre Anwesenheit kann also für die Diagnose einer lordotischen Albuminurie verwertet werden.

Nachweis des Serumeiweißes (gewöhnliches Eiweiß Albumin) im Harn

Die Prüfung des Harnes auf Eiweiß muß mit großer Sorgfalt ausgeführt werden da jede auch die geringste nachweisbare Eiweißmenge eine diagnostische Bedeutung hat.

Der auf Eiweiß zu untersuchende Harn muß

1 möglichst klar sein

2 sauer reagieren

3. frei von eiweißhaltigen nicht aus den Harnwegen oder von anderen Sekreten stammenden Verunreinigungen (Menstrualblut Sputum) sein.

Die im Harn suspendierten Salze Bakterien oder Formelelemente werden durch Filtrieren beseitigt. Bei bakteriellen Trübungen gelingt es meist nicht durch Filtration eine klare Flüssigkeit zu bekommen. Man hat früher zur Klärung des Harnes in diesen Fällen das Schütteln mit Kieselgur *Magnesia usta* oder Bariumcarbonat angewandt. Seitdem aber festgestellt wurde daß dabei Eiweiß adsorbiert wird und dem Nachweis entgehen kann müssen wir auf diese Methode verzichten. Der Nachweis des Eiweißes auch in bakteriell getrübbten Harnen gelingt gut wenn man die Proben in zwei Reagensgläsern ausführt von denen das eine als Kontrolle dienen soll. Harnen deren Trübung durch ausgefallene Urate verursacht ist gelingt es am leichtesten durch schwaches Erwärmen klar zu machen.

Von den zahlreichen zum Nachweis von Eiweiß im Urin empfohlenen Reaktionen sollen im nachstehenden nur die erwähnt werden die sich als zuverlässig und brauchbar in der Praxis bewährt haben.

1 Schichtprobe nach *Heller* mit Salpetersäure. Man gießt 3 bis 5 cm³ Salpetersäure (20%) in ein Reagensglas oder was bequemer ist in ein kleines konisches Gläschen (Kognakgläschen) hält es schief und überschichtet aus einer Pipette die Salpetersäure vorsichtig mit einem gleichen Volumen Harn. Die Überschichtung muß langsam und vorsichtig gemacht werden (man läßt die Flüssigkeit aus der Pipette an der Wand ablaufen so daß beide Flüssigkeiten sich nicht mischen) Bei Anwesenheit von Eiweiß bildet sich an der Grenze beider Flüssigkeiten eine scharf begrenzte ringförmige Trübung

Bei ganz geringen Mengen von Eiweiß bildet sich der Ring erst nach zwei bis drei Minuten. Die Probe beruht auf der Eigenschaft der Salpetersäure am schnellsten Acidalbumine die im Überschuß der Säure schwer löslich sind zu bilden.

Bei dieser Probe sind folgende Fehlerquellen zu beachten

a) In sehr konzentrierten Harnen bekommt man an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten einen deutlich kristallinischen Ring, der aus salpetersaurem Harnstoff besteht. Bei einiger Aufmerksamkeit wird es sehr leicht sein, diesen deutlich kristallinischen Ring vom opaken scharf begrenzten Eiweißring zu unterscheiden. Außerdem wird diese Ausscheidung von salpetersaurem Harnstoff durch Verdünnung des Urins leicht beseitigt.

b) In vielen harnsaure Salze enthaltenden Urinen entsteht ebenfalls eine ringförmige Trübung die sich aber dadurch vom Eiweißring unterscheidet, daß sie sich oberhalb der Berührungslinie befindet und beim gelinden Erwärmen verschwindet.

c) Nach innerlicher Anwendung von balsamischen Präparaten (Kopaiva, Tolubalsam, Ol. Santali) entsteht ein weißlicher von Harnsauren herrührender Ring. Er unterscheidet sich vom Eiweißring dadurch, daß er oben nicht scharf begrenzt ist und sich in Alkohol löst.

d) Nucleoalbuminhaltige Urine zeigen bei der Heller'schen Probe eine ringförmige Trübung. Der Ring befindet sich aber nicht an der Berührungsstelle sondern in der Mitte der Urinschicht beim Umschütteln löst sich der Ring wieder auf.

e) Da die Salpetersäure die Harnfarbstoffe oxydiert, so bilden sich bei dieser Probe in jedem Harn farbige Ringe (rote, braunliche, blaue, grüne), die niemals mit den Eiweißringen verwechselt werden können da bei ihnen die Trübung vollkommen fehlt.

f) Wird zur Konservierung des Harnes Thymol in Pulverform zugesetzt, so löst sich ein Teil desselben auf und scheidet sich bei der Heller'schen Probe an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten in Form eines scharf begrenzten Ringes wieder aus. Die Verwechslung mit dem Eiweißring ist leicht möglich daher soll Thymol nur in Form großer Kristalle angewandt werden.

Die Probe gibt noch ein positives Resultat bei Verdünnungen von 1 : 30 000 d. h. sie zeigt noch 0.033% Eiweiß an. Bei diesem Eiweißgehalt entsteht der Ring erst nach zwei Minuten. Sind die oben genannten Fehlerquellen berücksichtigt so ist die Probe sehr genau und zuverlässig.

2 Kochprobe mit Kochsalz und Essigsäure. Man versetzt 3 bis 5 cm³ Urin im Reagensglas mit einem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung fügt drei bis fünf Tropfen 30%ige Essigsäure hinzu und erwärmt

bis zum Kochen Entsteht eine Trübung oder ein Niederschlag so ist Eiweiß vorhanden. Um ganz geringe Trübungen bei dieser Probe erkennen zu können empfiehlt es sich gleichzeitig zwei Reagensgläser mit dem Urin und den Reagenzien in gleicher Weise zu füllen und nur eine Probe zu kochen. Die andere wird zum Vergleich benutzt. Betrachtet man nämlich beide Proben bei durchfallendem Licht auf einem dunklen Hintergrund so wird die geringste Trübung in der gekochten Probe deutlich sichtbar sein. Harzsäuren werden bei dieser Probe auch ausgefällt und werden durch Zusatz von Alkohol aufgelöst.

Diese Probe ist empfindlicher als die *Hellersche* und hat im Vergleich mit anderen Kochproben den Vorteil daß die Farbe des Urins bei ihr unverändert bleibt und daher die geringste Trübung sichtbar wird besonders wenn man zum Vergleich den ungekochten und mit denselben Reagenzien versetzten Urin nimmt. Für die Praxis ist sie besonders zu empfehlen weil sie im Notfall auch ohne chemisches Besteck mit gewöhnlichem Essig und Küchensalz in einem eisernen Löffel ausgeführt werden kann.

3. Probe mit Ferrocyankalium und Essigsäure. 10 cm³ des Harnes versetzt man mit 20 Tropfen 30%iger Essigsäure und fügt wenn der Harn klar geblieben ist einen bis drei Tropfen einer 10%igen Ferrocyankaliumlösung hinzu. bei Gegenwart von Eiweiß scheidet sich ohne jede Erwärmung ein gelblich weißer feinflockiger Niederschlag aus. bei ganz geringem Eiweißgehalt tritt eine Trübung oder leichte Opaleszenz erst nach einigen Minuten ein.

Sollte schon nach dem Zusatz von Essigsäure eine Trübung bzw. Fällung eintreten (bedingt durch Urate oder Essigweiß) so wird die Flüssigkeit abfiltriert und die Probe mit dem klaren Filtrat angestellt.

Die Probe ist empfindlich gibt aber bei sehr konzentrierten eiweißhaltigen Harnen nicht selten ein negatives Resultat.

4 Probe mit Sulfosalicylsäure (Salicylsulfonsäure) Etwa 5 cm³ filtrierten Urins versetzt man mit fünf bis zehn Tropfen einer 20%igen Sulfosalicylsäurelösung. Bei geringen Eiweißmengen entsteht eine Opaleszenz, bei größeren eine deutliche Trübung oder ein weißlicher flockiger Niederschlag. Harnsäure, harnsaure Salze werden bei dieser Probe nicht ausgefällt.

Albumosen (außer Deuteroalbumosen) werden gefällt, lösen sich aber beim Erhitzen vollkommen auf, während der Eiweißniederschlag dabei unverändert bleibt. Auch Essig-eiweiß wird ausgefällt. Zur Unterscheidung desselben wird gleichzeitig die Probe mit Essigsäure in der Kälte ausgeführt (vgl. S. 174).

Harzsäuren verhalten sich bei dieser Probe ebenso wie bei den vorigen.

Die Probe ist sehr empfindlich. Eiweißmengen von 0.015‰ geben noch ein positives Resultat. Um eine geringe Opaleszenz feststellen zu können, betrachtet man die Probe im durchfallenden Licht auf schwarzem Hintergrund und vergleicht sie unter denselben Bedingungen mit einem Reagensglas, das eine gleiche Menge des klaren, filtrierten Harnes enthält.

Auf Grund zahlreicher Harnuntersuchungen können wir diese Probe als zuverlässig und empfindlich empfehlen.

Es ist zu bemerken, daß es bei der qualitativen Untersuchung des Harnes auf Eiweiß immer ratsam ist, sich nicht bloß an eine der beschriebenen Proben zu beschränken, sondern mindestens zwei von ihnen auszuführen. Man kann dabei folgendermaßen verfahren: Als vorläufige orientierende Probe benutzen wir die *Hellersche* Schichtprobe. Ergibt dieselbe ein deutlich positives Resultat, d. h. entsteht sofort ein typischer Eiweißring, so enthält der Urin größere Eiweißmengen und der Eiweißgehalt wird mit der Kochprobe oder der Sulfosalicylsäureprobe bestätigt. Entsteht der Ring erst

nach einigen Minuten so handelt es sich um Spuren von Eiweiß die durch die Sulfosalicylsäureprobe oder Kochprobe mit Kochsalz und Essigsäure kontrolliert werden. Ist bei der *Hellerschen Probe* überhaupt kein Ring entstanden so kann der Harn entweder vollkommen eiweißfrei sein oder nur ganz geringe Spuren Eiweiß enthalten. Als Kontrollprobe muß hier die empfindliche Sulfosalicylsäureprobe ausgeführt werden.

Wir empfehlen die Sulfosalicylsäureprobe stets zu erhitzen damit keine Verwechslungen mit Albumosen stattfinden

Albumosen und Pepton (unkoagulierbare Eiweißstoffe)

Echte Peptone im Sinne *Kühnes* sind im Harn bisher mit Sicherheit nur in vereinzelten Fällen festgestellt worden. In allen früher unter Peptonurie zusammengefaßten Fällen handelt es sich höchstwahrscheinlich um Ausscheidung von Albumosen. Letztere finden sich im Harn meist bei solchen krankhaften Zuständen bei denen ein rascher Zerfall des normalen oder pathologischen Gewebes stattfindet bei umfangreichen zellenreichen Exsudaten und Abscessen und bei fieberhaften Krankheiten verschiedener Art. Bei Beimischungen von Sperma sind im Harn auch Spuren von Albumosen nachweisbar weil dieses Sekret Albumosen enthält

Die im Harn vorkommenden Albumosen bestehen gewöhnlich aus einem Gemisch von Deutero- und Protoalbumosen. Eine eigenartige Substanz der sogenannte *Bence Jones'sche Eiweißkörper* der früher ebenfalls als Albumose bezeichnet wurde findet sich bei multiplem Myelom. Ganz geringe Mengen von Albumosen lassen sich im Harn direkt mit Sicherheit nicht nachweisen. Sie müssen erst durch Fällung aus größeren Harnmengen isoliert werden. Bei albumosenreichen (und eiweißfreien) Harnen zeigt schon der abnorme Verlauf der gewöhnlichen Eiweißproben die Anwesenheit von Albumosen an

a) Bei der Kochprobe wird der beim Erhitzen klar gewesene Urin nach dem Erkalten trübe oder gibt einen flockigen Niederschlag

b) Bei der Sulfosalicylsäureprobe verschwindet die Trübung bzw. der Niederschlag beim Erhitzen und entsteht wieder beim Erkalten. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweiß ist die Aufhellung beim Erhitzen keine vollkommene. In solchen Fällen muß der Harn zuerst enteiweißt werden (siehe unten). Zum sicheren Nachweise der Albumosen im Harn bedient man sich am zweckmäßigsten der Methode von *J. Bang*

10 cm^3 Harn werden in Reagensglase mit 8.0 g Ammoniumsulfat versetzt bis zum Sieden erhitzt und einige Sekunden gekocht. Hierauf übergießt man die Flüssigkeit in ein Zentrifugenröhrchen und zentrifugiert ab. Das Sediment enthält Eiweiß Albumosen und eventuell Urobilin. Zur Entfernung des letzteren wird nachdem die Flüssigkeit abgegossen ist 5 bis 8 cm^3 Alkohol zugesetzt mit einem Glasstab gut verneben und wieder abzentrifugiert. Der Alkohol wird abgegossen, der Bodensatz mit einigen Kubikzentimetern Wasser aufgeschwemmt in ein Reagensglas gebracht bis zum Kochen erhitzt und durch ein kleines Filterchen filtriert. Mit dem Filtrate, das die Albumosen enthält, wird die Biuretprobe ausgeführt. Man setzt 1 bis 2 cm^3 30%ige Natronlauge zu und überschichtet mit einer 0.5%igen Kupfersulfatlösung. An der Berührungsstelle entsteht ein rötlich violetter Ring. Bei reichlichem Urobilingehalt des Harnes wird die Auswaschung mit Alkohol mehrfach wiederholt.

Der *Bence-Jones*sche Eiweißkörper wird durch folgende Reaktionen festgestellt:

1. Erhitzt man vorsichtig den deutlich sauer reagierenden Harn, so beginnt er sich bei 45 bis 55° C milchig zu trüben und scheidet sodann einen klebrigen, der Wand des Gefäßes anhaftenden Niederschlag aus, der bei weiterem

Erhitzen sich völlig auflöst. Beim Abkühlen scheidet sich der Eiweißkörper wieder aus*)

2. Bei Zusatz 12·5%iger Salzsäure tritt Gerinnung ein

3. Bei der Ausführung der *Hellerschen* Schuchtprobe mit der 10- bzw. 20fachen Verdünnung des Harnes erhält man ein negatives Resultat trotz des starken positiven Ausfalles der anderen Eiweißreaktionen.

Diese Eigenschaft des *Bence-Jones* Eiweißkörpers ist uns bei der quantitativen Albuminbestimmung nach der *Brandberg*schen Methode aufgefallen.

Lichtwitz hat in drei Fällen beobachtet, daß bei sehr langem Stehen unter aseptischen Bedingungen das ganze *Bence-Jones* Eiweiß ausfällt. Außer dem multiplen Myelom wurde der *Bence-Jones* Eiweißkörper auch vereinzelt bei Osteomalacie Sarkomatose Hypernephrom und Leukämie festgestellt.

Durch Essigsäure in der Kälte fällbare Eiweißkörper (Eisgelweiß)

Diese Eiweißsubstanzen bestehen aus Nucleoalbuminen eventuell aus Globulinen am häufigsten aber aus Verbindungen von Albumin mit Chondroitinschwefelsäure. Meistens findet man sie im Harn bei physiologischer und orthostatischer Albuminurie. Besonders sind sie für die letztere charakteristisch. Sie können dabei zusammen mit gewöhnlichem Eiweiß gefunden werden oder im eiweißfreien Harn auftreten. Nicht selten finden sie sich auch im Harn bei akuter Nephritis Ikterus und Amyloidose. Nach *Morner* bewirkt die Essigsäure das Freiwerden der Chondroitinschwefelsäure aus ihren Salzen. Die freie Säure fällt dann das im Harn gelöste Serumweiß. Außer der Chondroitinschwefelsäure besitzen auch die Nucleinsäure sowie die Taurocholsäure derartige eiweißfällende Eigenschaften

*) Um die Gerinnungsfähigkeit bei niedriger Temperatur mit Sicherheit festzustellen, bringt man eine Probe des Harnes in ein Wasserbad bei 55° C.

Essigweiß wird folgenderweise nachgewiesen

5 cm³ des filtrierten Harnes versetzt man mit fünf bis zehn Tropfen 30%iger Essigsäure schüttelt gut durch und verdünnt mit einer ein bis zweifachen Menge Wasser. Sind durch Essigsäure fällbare Eiweißkörper vorhanden so entsteht sofort oder nach einigen Minuten eine Trübung. Um die Intensität dieser Trübung feststellen zu können empfiehlt es sich in einem zweiten Reagensglas eine gleiche Menge Harn mit Wasser in derselben Weise zu verdünnen (ohne Essigsäurezusatz) und beide Reagensgläser auf einem dunklen Hintergrund zu vergleichen. Wir empfehlen diese Probe mit jedem eiweißhaltigen Harn vorzunehmen. Sie kann gleichzeitig mit der Sulfosalicylsäureprobe ausgeführt werden. Man benutzt hierzu am besten die zum Vergleich dienende Harnprobe.

W. Weiss hat zum Nachweis des Fäulweißes, den er als Nukleo-Albumin bezeichnet eine neue Reaktion angegeben, sie besteht darin, das man den durch Sulfosalicylsäure getrubten Harn kocht und abkühlen läßt. Bei Anwesenheit von Nukleo-Albuminen wird die Trübung nach dem Kochen verstärkt.

Methoden zur Enteiweißung des Harnes.

1 Der saure Urin (neutrale und alkalische Urine müssen mit Essigsäure ganz schwach angesäuert werden) wird bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Scheidet sich dabei das Eiweiß nicht in großen Flocken ab sondern entsteht nur eine Trübung so fügt man vorsichtig einige Tropfen Essigsäure zu und erhitzt noch eine ganz kurze Zeit. Ist durch diese Manipulation wieder keine großflockige Eiweißausscheidung erreicht so gibt man einige Kubikzentimeter gesättigter Kochsalzlösung zu und erhitzt wieder bis zum Sieden. Das Gelingen der Eiweißkoagulation ist in erster Linie von der Menge der zugesetzten Essigsäure abhängig sie muß daher mit großer Vorsicht zu gegeben werden. Ein Überschuß wirkt ebenso schädigend auf die Koagulation wie ein ungenügender Zusatz. Das Filtrat muß klar sein und darf mit Sulfosalicylsäure keine Trübung geben (Ausnahme albumosenhaltige Flüssig

keiten) Anstatt Essigsäure kann man eine 20%ige Sulfosalicylsäure anwenden. Diese kann in größerer Menge zugefügt werden. Bei bakteriellem Harn erhält man klare Filtrate wenn man nach der Koagulation zu der Flüssigkeit Kaolinpulver zusetzt (einen Kaffeelöffel auf 200 cm^3) gut durchschüttelt und filtriert.

2. Man versetzt 5 cm^3 normale Natronlauge mit einem Tropfen Phenolphthalein und so viel 10% Zinksulfatlösung bis die rote Farbe verschwunden ist. Die so hergestellte kolloidale Zinkhydroxydlösung vermischt man mit 50 cm^3 Harn und erhitzt 5 Minuten im Wasserbad. Hierauf wird filtriert.

Praktischer Gang der qualitativen Untersuchung auf Eiweiß

Man stellt zunächst die Sulfosalicylsäureprobe in zwei Reagenzgläsern an. Ergibt die Probe ein negatives Resultat, d. h. erscheint die Flüssigkeit auch auf schwarzem Hintergrund klar, so ist überhaupt kein Eiweiß vorhanden.

Ist bei der Sulfosalicylsäureprobe eine Trübung entstanden, so kann es sich entweder um gewöhnliches Eiweiß oder Albumosen oder Essig-eiweiß handeln, seltener kommt der *Bence-Jonesche* Eiweißkörper in Betracht. Man erhitzt die Probe bis zum Kochen, verschwindet dabei die Trübung vollständig oder zum größten Teil, so kann es sich um Albumosen handeln. Man stellt in diesem Falle die *Bence-Jonesche* Probe an. Ist beim Erwärmen die Trübung unverändert geblieben oder ist anstatt einer gleichmäßigen Trübung eine Ausflockung eingetreten, so kann es sich entweder um gewöhnliches Eiweiß oder um ein Gemisch aus diesem und Essig-eiweiß handeln. Man versetzt die Harnprobe, die zum Vergleich bei der Sulfosalicylsäureprobe diente, mit einer gleichen Menge Wasser und verdilut die Flüssigkeit auf zwei Reagenzgläser. Zu einem dieser Gläser setzt man einige Tropfen 20%ige Essigsäure zu und hält die Proben gegen einen schwarzen Hintergrund. Hat der Zusatz von Essigsäure eine Trübung bewirkt, so ist Essig-eiweiß vorhanden. Wenn der Harn nur diesen Eiweißkörper enthält, so ist die Trübung ebenso stark wie die Trübung bei der Sulfosalicylsäureprobe mit zweifach verdünntem Harn.

Es empfiehlt sich, zur Kontrolle und zur Schätzung der Eiweißmenge auch die *Hellersche* Probe anzustellen. Ergibt bei schwacher Trübung der Sulfosalicylsäureprobe die *Hellersche* Probe ein negatives Resultat, so kann es sich nur um Spuren von Eiweiß (unter 0.05%) handeln.

Ein Verdacht auf das Vorhandensein des *Bence-Joneschen* Eiweißkörpers liegt dann vor, wenn beim Erhitzen der Sulfosalicylsäureprobe eine Lösung eintritt und bei der quantitativen Eiweißbestimmung nach *Brandberg* trotz des starken Ausfalles der qualitativen Eiweißproben schon bei der zehnfachen Verdünnung des Harnes kein Eiweißring erscheint. Man stellt dann die Reaktionen, die für *Bence-Jonesche* Eiweißkörper charakteristisch sind an.

Kohlenhydrate des Harnes.

Der normale Harn enthält gewöhnlich nur ganz geringe Mengen von Kohlenhydraten und zwar finden sich tierisches Gummi und ganz geringe Spuren Traubenzucker die mit den üblichen Reaktionen nicht nachweisbar sind

Unter abnormen und pathologischen Verhältnissen können außer Traubenzucker noch folgende Zuckerarten gefunden werden Milchzucker Fruchtzucker Maltose Inosit Pentosen Bei der klinischen Harnuntersuchung kommt aber in erster Linie der Nachweis des Traubenzuckers in Betracht

Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$

(Glycose Dextrose Harnzucker)

Der Nachweis des Traubenzuckers im Harn beruht hauptsächlich auf seinen folgenden Eigenschaften

1 In alkalischer Lösung ist der Traubenzucker geneigt Sauerstoff aufzunehmen und wirkt daher als kräftiges Reduktionsmittel. Metallische Oxide werden dabei zu Oxydul oder reinem Metall reduziert

2 Versetzt man eine Traubenzuckerlösung mit Hefe so tritt alsbald alkoholische Gärung ein durch welche der Traubenzucker hauptsächlich in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird $C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5O + 2CO_2$

3 Mit Phenylhydrazin bei Gegenwart von Natriumacetat bildet der Traubenzucker eine kristallinische Verbindung Phenylglucosazon

4 Seine wässrige Lösung dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts und zwar beträgt die spezifische Drehung $+52.5^\circ$ Frisch bereitete Lösungen zeigen Birotation d. h. doppelte Drehung welche beim Erwärmen oder längerem Stehen aufgehoben wird.

Zuckerreaktionen welche auf den reduzierenden Eigenschaften des Traubenzuckers beruhen

a) Die Nylandersche Probe

Eine farblose alkalische Lösung von Wismutoxyd färbt sich beim Erwärmen mit Traubenzucker schwarz, weil das Wismutoxyd in Wismut

oxydul oder metallisches Wismut umgewandelt wird. Das *Nylandersche* Reagens hat folgende Zusammensetzung

Bismuti subnitrici	2·0
Sal. Seignetti	4·0
Natrii caustici	10·0
Aquae destill.	100·0

Ausführung der Probe. Etwa 5 cm^3 Harn werden mit 20 bis 30 Tropfen (ein Überschuß schadet nicht) des Reagens versetzt und zwei Minuten (nicht weniger) gekocht. Es bildet sich in jedem Urin zunächst ein weißlicher flockiger Niederschlag aus Phosphaten der bei zuckerfreien Harnen unverändert bleibt. In zuckerhaltigen Urinen färbt sich zuerst der Niederschlag und dann die ganze Flüssigkeit gelbbraun und zuletzt schwarz. Bei geringen Zuckermengen (unter 0·1%) ist eine deutliche schwarze Färbung des Niederschlages während des Kochens nicht wahrnehmbar die Färbung tritt erst dann hervor nachdem der Niederschlag sich zu Boden gesenkt hat. In solchen Fällen ist die Flüssigkeit nur dunkelgelb oder dunkelbraun gefärbt. Das Kochen der Probe muß mit gewisser Vorsicht ausgeführt werden damit das Sieden ruhig ohne starkes Aufstoßen geschieht. Man nimmt daher gleich nach dem ersten Aufwallen das Reagensglas aus dem oberen heißen Teil der Flamme und hält es während des weiteren Kochens nur nahe dem kälteren unteren Teil. Die *Nylandersche* Probe ist sehr empfindlich darum kann man bei negativem Ausfall dieser Probe mit Sicherheit behaupten daß der betreffende Harn zuckerfrei ist.

Das positive Resultat dagegen bedeutet nicht immer das Vorhandensein von Traubenzucker weil andere im Harn vorkommende Substanzen ihn vortäuschen können. Die wichtigsten von diesen Substanzen sind folgende

a) **Eiweiß.** Bei Eiweißgehalt bis zu 2·0%₁₀₀ entsteht eine rotbraune Färbung, bei größeren Eiweißmengen eine schwarzbraune die zu einer Verwechslung mit durch Zucker reduziertem Wismut Veranlassung geben kann. Die schwarze Färbung wird in eiweißhaltigem Harn durch Zersetzung des Eiweißes und Bildung von Schwefelwismut bedingt. Man tut darum gut wenn man bei so stark eiweißhaltigem Harn das Eiweiß vor der Ausführung der Probe ausscheidet. Es gibt auch Fälle wo trotz Zucker

gegenwart gar keine Reduktion eintritt, weil das ganze Reagens an das Eiweiß gebunden wird. Das passiert aber nicht, wenn man mit dem Reagens nicht sparsam ist und es lieber im Überschuß zusetzt.

β) Chrysophansäure, die nach dem Gebrauch von Rheum oder Sennapreparaten durch den Harn ausgeschieden wird, verursacht ebenfalls eine Reduktion bei der *Nylenderschen* Probe. Ihre Gegenwart verrät sich durch eine rötliche Färbung des Harnes schon bei Zusatz des Reagens. Diese Färbung entsteht ebenfalls bei Zusatz von Natronlauge und verschwindet vollkommen beim Hinzufügen von Essigsäure (Unterschied von Hämoglobin).

γ) Salol, Antipyrin, Menthol, Terpentinöl, Sulfonal, Trional, Benzoesäure scheiden sich nach innerem Gebrauch im Harn als Glyconsaureverbindungen aus und verursachen ebenfalls eine schwache Reduktion bei der *Nylenderschen* Probe.

Bei stark ausgesprochener ammoniakalischer Zersetzung des Harnes, wobei sehr viel Ammoniumcarbonat vorhanden ist, kann die Reaktion bei Gegenwart von Zucker negativ ausfallen, weil die Natronlauge des Reagens sich mit Ammoniumcarbonat zu Natriumcarbonat und Ammoniak umsetzt und letzteres beim Kochen entweicht, so daß die zur Reduktion notwendige starke Alkaleszens fehlt. Man soll daher bei eiweißhaltigen und stark alkalischen Harnen reichlich Reagens (etwa ein Drittel der Harnmenge) zusetzen.

b) Die *Trommersche* Probe.

Die Probe beruht auf folgenden Tatsachen:

Setzt man zu einer Natronlauge-Lösung Kupfersulfat zu, so bildet sich ein in Natronlauge unlöslicher Niederschlag von Kupferhydroxyd $2\text{NaOH} + \text{CuSO}_4 = \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Cu}(\text{OH})_2$. Dieser Niederschlag ist aber in weintrauben Salzen, Ammoniak, Eiweiß, Harnsäure, Kreatinin und Traubenzucker löslich. Der normale Harn enthält einige von diesen kupferhydroxydlösenden Substanzen in geringer Menge.

Erwärmt man nun eine alkalische blaue Kupferhydroxydlösung, so bleibt sie unverändert, wenn die Flüssigkeit keine reduzierenden Substanzen enthält.

Sind aber solche Substanzen vorhanden, so bildet sich aus dem Kupferhydroxyd Kupferoxydul, die Flüssigkeit verliert dabei ihre blaue Farbe, sie wird gelb oder farblos und es entsteht ein gelber oder roter Niederschlag. Der gelbe Niederschlag besteht aus Kupferhydroxydul, der rote aus reinem wasserfreiem Kupferoxydul.

Ausführung. Man versetzt in einem Reagensglas 5 bis 8 cm³ Harn mit etwa einem Viertel seines Volumens Kali- oder Natronlauge (10%) und fügt tropfenweise unter kräftigem Schütteln eine 10%ige Lösung von Kupfersulfat solange hinzu, bis eine ganz geringe Menge des sich dabei bildenden Kupferhydroxyds ungelöst bleibt. Jetzt erhitzt man die Mischung am besten an der Oberfläche der Flüssigkeit bis zum beginnenden Sieden. Ist Zucker vorhanden, so

bildet sich zuerst an der erwärmten Stelle eine gelbe Trübung die ohne weiteres Erwärmen sich bald über die ganze Flüssigkeit verbreitet und sich als gelber oder roter feinkörniger Niederschlag absetzt.

In dieser Weise verläuft die Reaktion aber nur im ausgesprochen diabetischen Harn.

Bei geringem Zuckergehalt (unter 0.5%) färbt sich zwar die Flüssigkeit gelb aber es entsteht oft keine Ausscheidung des Kupferoxyduls. Andererseits kann eine Gelbfärbung der Flüssigkeit und sogar (nach dem Erkalten) eine nachträgliche Ausscheidung des Kupferoxydulniederschlages in vollkommen zuckerfreien konzentrierten Harnen entstehen.

Die *Froehde'sche* Probe läßt den Untersuchenden oft über das Vorhandensein von Zucker im Urin in Ungewißheit und daher muß man diese Probe als eine unsichere ansehen. Zum genaueren qualitativen Nachweis von Zucker soll man die *Froehde'sche* Probe nur in der folgenden verbesserten Form in Anwendung bringen.

c) Probe nach Fehling

Notwendige Reagenzien

- | | | |
|---|-------|-----------------------------|
| 1. 70%ige Lösung von Kupfersulfat (<i>Fehling</i> Nr. 1) | | |
| 2. Natriumhydrat | 10.0 | } <i>Fehling</i>
(Nr. 2) |
| Weinsaures Kalinatron (Sesquiesalze) | 35.0 | |
| Aqu. dest. | 100.0 | |

Ausführung Man bringt je zehn Tropfen beider Lösungen in ein Reagensglas schüttelt die Mischung um verdünnt mit einer dreifachen Menge Wassers und erhitzt bis zum Sieden. Die heiße Flüssigkeit versetzt man alsdann mit drei bis fünf Tropfen des zu untersuchenden Harnes und erhitzt wiederum bis zum Sieden. Ist kein Zucker vorhanden so behält die Flüssigkeit ihre blaue Farbe. Bei reichlichem Zuckergehalt entsteht schon sofort nach der Zugabe des Harnes eine gelbe oder gelbrote Färbung der Flüssigkeit und Ausscheidung eines reichlichen feinkörnigen Nieder-

schlages von Kupferoxydul. Bei geringerem Zuckergehalt treten die Veränderung der Farbe und die Ausscheidung des Kupferoxyduls erst bei der nochmaligen Erwärmung ein.

Die kupferoxydullosenden und reduzierenden Eigenschaften des normalen Harnes werden bei dieser Probe dadurch beseitigt, daß die zur Ausführung der Reaktion notwendige Harnmenge sehr gering ist und deshalb die genannten Eigenschaften des Harnes ad minimum reduziert sind. Durch die Anwesenheit des weinsäuren Kalinatriums im Reagens wird die Ausscheidung von Kupferhydroxyd, das beim Kochen schwarzes Kupferoxyd bildet und bei der *Tranmierschen* Probe oft die Reaktion un- deutlich macht, vollkommen vermieden, weil das Seignettesalz das Kupfer oxydhydrat in Lösung erhält.

Vielfach empfohlen wird noch als einfache und zu verlässige Probe

d) die Reaktion nach Harnes

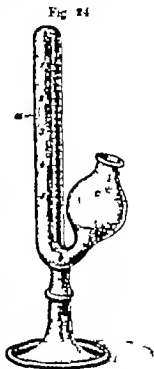
Das *Harnersche* Reagens besteht aus

Kupfersulfat	2 0
Aqua dest	15·0
Glycenn	15 0
5%ige Kalilauge	150·0

Man bringt 4 cm^3 des Reagens zum Kochen fügt zuerst einige Tropfen Harn hinzu und kocht wieder. Bei Anwesenheit von viel Zucker scheidet sich der bekannte Niederschlag rasch ab. Ist wenig Zucker vorhanden so muß man mehr Urin — bis zehn Tropfen — zusetzen und bis zwei Minuten kochen.

Gärungsprobe. Man verreibt in einem Reagensglas ein erbsengroßes Stückchen frischer Preßhefe die vollkommen zuckerfrei sein muß mit etwas Harn (1 bis 2 cm^3) und fügt diesem Hefebrei etwa 20 bis 25 cm^3 Harn zu. (Reagiert der Harn alkalisch so wird er bis zur sauren Reaktion mit Weinsäure versetzt. Ammoniakalisch zersetzte sowie stark bakterielle Harn sind für die Gärungsprobe nicht geeignet da hierbei durch Bakterien hervorgerufene Gasausscheidung die Hefegärung vortäuschen kann.) Mit diesem hefehaltigen sauren Harn füllt man das *Einkornsche* Gärungsröhrchen (Fig. 24) derart daß das Röhrchen a mit der Flüssigkeit vollkommen gefüllt ist und keine Spur Luft enthält. Der

Harn wird bis zur Hälfte der kugelförmigen Erweiterung *c* gefüllt und der Apparat an einen mäßig erwärmten Ort (25 bis 30° R) gestellt. Der horizontale Teil des Apparates kann bei *b* sicherheitshalber durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden was übrigens bei qualitativen Proben nicht nötig ist. Bei Anwesenheit von Zucker wird sich schon im Verlauf von einigen Stunden in dem oberen Teile des Röhrchens *a* Kohlensäure ansammeln da der Traubenzucker bei der Gärung in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird. Ist Zucker nicht vorhanden so wird keine Gasbildung stattfinden. Der Versuch ist als beendet erst nach 24 Stunden anzusehen. Da die käufliche Hefe nicht immer zuckerfrei und gärungsfähig ist so müssen gleichzeitig zwei Kontrollproben an gestellt werden. Ein Gärungs-röhrchen wird in der beschriebenen Weise mit Wasser und Hefe das andere mit einer angesäuerten Traubenzuckerlösung (0.5%) und Hefe gefüllt. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen wenn im ersten Kontrollgärungs-röhrchen sich kein Gas bildet im zweiten aber Kohlensäure sich in reichlicher Menge ansammelt. Will man sich überzeugen daß das ausgeschiedene Gas wirklich aus Kohlensäure besteht so läßt man mittels einer gekrümmten Pipette etwas Natronlauge in das Röhrchen *a* eintreten. Verschwindet dann die Gasblase so bestand sie aus Kohlensäure. *Carl Lange* hält die Ausführung dieser Kontrolle für notwendig bei jeder Gärungsprobe.



Die Gärungsprobe wird als die sicherste Methode zum Nachweis von Zucker im Harn angesehen.

Die Untersuchungen von *Neuberg* und *Hildesheimer* über „zuckerfreie Hefegärungen“ haben zwar gezeigt daß eine Reihe von Substanzen die auch im Harn vorkommen mit Hefe gären können die Menge dieser Stoffe im Harn ist aber so gering daß praktisch eine Gärung kaum zustande kommen kann, man kann daher bei der Bewertung der Gärungsprobe für die Praxis der Harnanalyse den alten Standpunkt bewahren. Außer Traubenzucker werden auch Fruchtzucker und Maltose durch Hefe vergärt da aber diese Zuckerarten gewöhnlich zusammen mit Traubenzucker im Harn ausgeschieden werden so wird dadurch der Wert der Gärungsprobe nicht beeinträchtigt. Die Gärungsprobe ist auch gleichzeitig genügend empfindlich Ein Zucker gehalt von 0.05% wird noch deutlich mittels dieser Probe nachgewiesen. Sie soll nur mit möglichst frischem Harn der keine Zusätze von Konservierungsmitteln enthält ausgeführt werden.

Die Phenylhydrazinprobe (nach *Kowarski*) Fünf Tropfen reinen Phenylhydrazins (*Phenylhydrazinum purum*) werden in einem gewöhnlichen Reagensglas mit zehn Tropfen Essig versetzt die Mischung wird leicht umgeschüttelt. Darauf fugt man 15 Tropfen gesättigter Kochsalzlösung zu wobei das Gemenge zu einem Brei erstarrt. Zu diesem Brei fugt man zirka 10 cm^3 Harn und erhitzt vorsichtig über der Flamme. Die Flüssigkeit muß wenigstens zwei Minuten im Sieden erhalten werden. Beim langsamen Abkühlen scheidet sich ein gelber Niederschlag ab der microscopisch aus den typischen Kristallen des Phenylglucosazons besteht (goldgelbe Nadeln in Garben gelagert) Die mehr oder minder schnelle Abscheidung des Niederschlages hängt von dem Zucker gehalt des Harnes ab Bei einem Zuckergehalt von mehr als 0.2% bildet sich der Niederschlag in einigen Minuten. Bei einem geringeren Gehalte aber muß man fünf Minuten bis eine halbe Stunde warten. Diese Probe ist sehr empfindlich und läßt einen Zuckergehalt von 0.03% noch erkennen. Eiweißhaltige Harn e müssen vor der Ausführung der Probe durch Kochen enteiweißt werden.

Über den praktischen Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten bis jetzt geteilt; einerseits wird behauptet daß auch normale Harn Bestandteile enthalten die mit Phenylhydrazin Osazone bilden und ähnliche Kristalle liefern andererseits wird diese Probe als zuverlässige und in zweifelhaften Fällen einen sicheren Anhaltspunkt gebende angesehen.

In der Tat sind im normalen Harn oft Substanzen vorhanden (Glycuronsäureverbindungen) die bei dieser Probe ähnliche Kristalle bilden. Die Substanzen finden sich aber in sehr geringer Menge und bei gewisser Übung kann man sie leicht von den typischen Glycosazonkristallen unterscheiden weil sie plumper dicker und nicht so typisch gelagert sind wie die echten Kristalle. Außer den Glycuronsäureverbindungen bilden auch andere Zuckerarten, sowie die Pentosen Osazone. Bei Anwesenheit von Pentosen fällt die Probe sehr stark positiv aus, und da man das Vorhandensein bzw. Fehlen der Pentosen durch die Orcanprobe genau feststellen kann, so wird durch die Pentosen die Brauchbarkeit der Probe nicht beeinträchtigt. Auf Grund unserer eigenen Erfahrung, die sich auf sehr zahlreiche Harnuntersuchungen erstreckt, halten wir diese Probe für eine sehr empfindliche und brauchbare und möchten ihre Ausführung besonders in zweifelhaften Fällen stets empfehlen.

Milchzucker $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Lactose)

Der Milchzucker findet sich in geringen Mengen im Harn der Wöchnerinnen vom dritten bis fünften Tag nach der Geburt. Seine Ausscheidung kann bis sechs Monate dauern besonders ist das bei nicht selbst stillenden gut ernährten Frauen der Fall. Auch in den letzten Monaten der Schwangerschaft wird Lactosurie beobachtet. Bei stillenden Frauen erscheint er im Harn besonders bei Stauungen in der Drüse (Mastitis und ähnlichen Zuständen). Da während der Schwangerschaft und im Wochenbette nicht selten auch ein Diabetes ausbrechen kann so ist die Feststellung der Art der Zuckerausscheidung von großem praktischem Wert. Er kann auch bei Verdauungsstörungen im Harn von Säuglingen vorkommen. Er besitzt wie Traubenzucker die Eigenschaft Metalloxyde in alkalischer Lösung zu reduzieren dreht auch die Polarisationssebene nach rechts. Mit Hefe unterliegt er aber der alkoholischen Gärung nicht. Beim Kochen mit verdünnten Säuren geht er in Traubenzucker und gärungsfähige Galaktose über.

Wird auf den Nachweis von Milchzucker im Harn großer Wert gelegt so muß er aus größeren Mengen Harn

im reinem Zustande isoliert und geprüft werden Wenn es sich nur um Differenzierung zwischen Traubenzucker und Milchezucker handelt so wird am zweckmäßigsten die Gärungsprobe angesetzt. Sie soll aber nicht länger als 18 Stunden dauern da nach dieser Zeit eine Spaltung der Lactose in Galactose eintreten und eine Gärung der Galactose stattfinden kann. Ist im Laufe von 18 Stunden keine Gärung eingetreten so handelt es sich höchstwahrscheinlich um Milchezucker Der Milchezuckergehalt des Harnes übersteigt selten 1%. In einzelnen Fällen sind 2 bis 3% gefunden worden.

Fructzucker $C_6H_{12}O_6$ (Lävulose)

Die Lävulose kommt selten im Harn vor und größtenteils als Begleiterin des Traubenzuckers. Sie unterscheidet sich vom Traubenzucker dadurch daß sie die Polarisations Ebene nach links dreht. Ihr Verhalten gegen Metalloxyde Hefe und Phenylhydrazin ist genau dasselbe wie das des Traubenzuckers

Seliwanoff hat folgende Farbenreaktion zum Nachweis von Fructzucker vorgeschlagen

Erwärmt man 10 cm^3 Lävuloselösung mit etwas Resorcin und 5 cm^3 konzentrierter Salzsäure (spezifisches Gewicht 1.19) so färbt sich die Flüssigkeit feuerrot und es bildet sich ein Niederschlag der sich in Alkohol mit einer roten Farbe auflöst. Die *Seliwanoffsche* Probe soll nur mit frischem sauer reagierendem Harn angestellt werden. Verdacht auf Lävulosurie entsteht in den Fällen wo der Harn bei scharf ausgesprochenen Reduktionsproben entweder nach links dreht oder eine zu geringe Rechtsdrehung zeigt.

Maltose Inosit Pentosen.

Maltose — $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ ist in Mengen von 0.1 bis 0.5% im Harn bei Diabetes gefunden worden Es handelt sich wahrscheinlich um Fälle von Pankreaserkrankung Maltose zeigt in bezug auf Reduktion, Drehung Gärung und Phenylhydrazinverbindung dieselben Eigenschaften wie Traubenzucker Sein Nachweis kann daher nur durch Isolierung geführt werden.

Inosit — Ist eigentlich kein Zucker. Er wird als Hexa- α -hexahydrobenzol aufgefaßt. Er kommt in Spuren im normalen Harn vor, wurde auch bei Albuminurie, Diabetes und pathologischen Zuständen, bei denen Polyurie vorliegt, in größeren Mengen gefunden. Nach *Starkenstein* ist die Inositorie aber nicht als eine besondere Stoffwechselstörung anzusehen.

Pentosen — $C_5H_{10}O_5$ (Pentaglycosen). Die Pentosenrie ist eine Stoffwechselanomalie, deren Ursachen und Wesen noch wenig bekannt sind. Sie kann bei anscheinend gesunden Menschen auftreten. Die Ausscheidung der Pentosen (0,2 bis 0,5%) wird durch die Art der Nahrung nicht beeinflusst. Nur bei Genuß von pentosenreichen Früchten oder Fruchtsäften kann vorübergehend eine alimentäre Pentosurie auftreten. Pentosen werden auch bei der Zuckerkrankheit neben Traubenzucker ausgeschieden. Eine praktische Bedeutung haben nur die Fälle reiner Pentosurie, da sie mit dem Diabetes verwechselt werden können.

Pentosen unterscheiden sich von anderen Zuckerarten dadurch, daß sie garungsunfähig sind. Sie reduzieren die *Fehling'sche* Lösung erst nach längerem Erhitzen und bei der *Nylander'schen* Reaktion tritt nur eine sehr schwach ausgesprochene Reaktion ein. Dagegen fällt die Phenylhydrazinprobe in Pentosenharnen sehr stark positiv aus. Dieses Mißverhältnis zwischen den Reduktionsproben und der Phenylhydrazinreaktion ist für Pentosenharnen nach unseren Beobachtungen sehr charakteristisch. Die im Harn auftretenden Pentosen sind größtenteils optisch inaktiv. (Nach *Neuberg* wird in dem größten Teil der Fälle die optisch inaktive Arabinose ausgeschieden.) Der Nachweis der Pentosen im Harn gelingt am besten durch die Orcinprobe, die in nachstehender Weise ausgeführt werden muß:

Man löst eine Messerspitze Orcin in 3 bis 5 cm³ rauchender Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) unter Erwärmen, so daß ein kleiner Überschuß ungelöst bleibt. Man versetzt alsdann die heiße Flüssigkeit mit 3 bis 5 cm³ Harn und erhitzt wieder bis zum Sieden. Sind Pentosen vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit dunkelgrün. Man kühlt die Probe unter dem Wasserstrahl ab und extrahiert den Farbstoff mit einer geringen Menge Amylalkohol; der smaragdgrüne Extrakt zeigt bei der spektroskopischen Untersuchung einen Absorptionstreifen zwischen C und D im roten Teile des Spektrums. Die Orcinprobe beruht auf der Bildung von Furfural, das beim Kochen mit Orcin und Salzsäure einen grünen Farbstoff liefert.

Glycuronsäure $CHO(CHOH)_4COOH$

Nach ihrer chemischen Beschaffenheit steht die Glycuronsäure den Kohlenhydraten sehr nahe. Sie wird als das erste Oxydationsprodukt des Traubenzuckers betrachtet. Freie Glycuronsäure kommt im Harn nicht vor; sie scheidet sich gewöhnlich in der Form gepaarter Verbindungen mit Phenol, Skatolyl, Indoxyl, Thymol usw. sowohl in normalen wie in pathologischen Harnen aus. Bei der ähnlichen Harnuntersuchung kommt sie insofern in Betracht, als sie einige dem Traubenzucker ähnliche Reaktionen gibt, was oft zur Verwechslung mit demselben führen kann. Die freie Glycuronsäure dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, die gepaarte Glycuronsäure nach links. Die Anwesenheit der gepaarten Glycuronsäuren im normalen Harn verursacht höchstwahrscheinlich

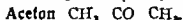
sehr genüge Linksdrehung. Das kann dadurch erwiesen werden, daß nach Kochen mit verdünnter Säure (Schwefelsäure) der Harn Rechtsdrehung zeigt, weil durch Kochen mit Säuren die Glycuronsäure frei wird. Bei der *Fehlingschen* und *Nylanderschen* Reaktion erhält man eine schwache Reduktion. Mit Bleiessig werden die Glycuronsäureverbindungen ausgefällt (Unterschied von Traubenzucker).

Alkapton.

Mit diesem Namen sind früher zwei Säuren — die Homogentzinsäure und die Urolenchsäure — bezeichnet worden. Nach den neuesten Untersuchungen handelt es sich bei der Alkaptonurie nur um die Ausscheidung von Homogentzinsäure. Da sie reduzierende Eigenschaften besitzt, so halten wir es für zweckmäßig sie den Kohlenhydraten anzureihen. In einer kleineren Zahl von Fällen von Alkaptonurie kommt es zur Pigmentation der Skleren, der Fingernägel und zur braunschwarzen Verfärbung der Knorpel und des Bindegewebes. *Viscows* hat bereits im Jahre 1865 diese Erscheinung als *Ochro-nose* bezeichnet. Das Pigment wird aus der Homogentzinsäure gebildet. Alkaptonharn ist durch folgende Eigenschaften charakterisiert:

1. Sie werden dunkel an der Luft besonders nach Zusatz von Alkali (braune Farbe)
2. Sie reduzieren die *Fehlingsche* Lösung schon in der Kälte
3. Sie sind optisch inaktiv und gären nicht.
4. Mit verdünnter Eisenchloridlösung entsteht eine blass Farbung. Die Farbung verschwindet bald, sie entsteht aber wieder bei weiterem vorsichtigen Zusatz von Eisenchlorid (wenn noch reaktionsfähige Substanz vorhanden ist)
5. Mit *Miltons* Reagens bildet sich ein citrongelber Niederschlag der beim Erwärmen ziegelrot wird.

Aceton Acetessigsäure β Oxybuttersäure.



Der normale Harn enthält nur ganz geringe mit den üblichen Reaktionen nicht nachweisbare Spuren Aceton (höchstens 0.01 g in der Tagesmenge) unter abnormen und pathologischen Verhältnissen (Diabetes Fieber strenge Fleischdiät Hunger Verdauungsstörungen) kann der Gehalt des Harnes an Aceton bis zu 10 g und höher steigen.

Nachweis. 1. Probe nach *Legal*. Man versetzt 8 bis 10 cm³ Harn mit drei bis fünf Tropfen einer frisch bereiteten gesättigten Nitroprussidnatriumlösung und macht darauf mit einigen Tropfen Natronlauge die Flüssigkeit alkalisch. Beim Zusatz von Natronlauge ent-

steht eine rubinrote Färbung die fast in jedem Harn hervortritt und durch einen normalen Bestandteil des Harnes das Kreatinin bedingt ist. Übersättigt man nun die rotgefärbte Flüssigkeit mit konzentrierter Essigsäure so wird bei Anwesenheit von Aceton die rote Farbe noch intensiver sie geht in Karmoisinrot über während im acetonfreien Harn die Rotfärbung vollkommen verschwindet. Empfindlicher ist die Modifikation dieser Probe nach *Langs*. Man versetzt 10 bis 15 cm^3 Urin mit 0.5 bis 1.0 cm^3 Eisessig fugt einige Tropfen konzentrierter frisch bereiteter Nitroprussidnatriumlösung hinzu und überschichtet mit einigen Kubikzentimetern Ammoniak. Bei Anwesenheit von Aceton entsteht an der Berührungsstelle ein intensiv violetter Ring.

2. Jodoformprobe nach *Lieber*. Man versetzt 5 bis 10 cm^3 Harn mit einigen Tropfen einer *Lugolschen* Jodjodkaliumlösung und etwas Natronlauge. Bei Gegenwart von Aceton bildet sich Jodoform das an Geruch und Kristallform (sechseckige oder sternförmige Tafeln) leicht erkennbar ist. Die Reaktion ist viel empfindlicher als die *Legalsche*.

Nach *Harkness* sollen die Nitroprussidreaktionen in Diabetikerharnen nicht Aceton, sondern Acetessigsäure anzeigen. Dieser Autor ist der Ansicht, daß die Acetessigsäure stets in viel größerer Menge ausgeschieden wird als das Aceton (18 Teile Acetessigsäure auf 1 Teil Aceton). Er hält daher die *Langsche* Reaktion für klinische Zwecke als die einzige Probe die zum Nachweis der Acidose ausreicht. Sie kann auch zur quantitativen Schätzung benutzt werden und zwar auf Grund der Tatsache, daß bei einem Gehalt von 0.07% bei der *Langschen* Probe der violette Ring nach knapp zwei Minuten entsteht. Wird die Probe mit verschiedenen Verdünnungen des Harnes, wie bei der *Brandbergschen* Eiweißbestimmung ausgeführt so erhält man durch Multiplikation der Verdünnungszahl mit 0.07 den Promillegehalt an Acetessigsäure. Als spezielle Probe auf Aceton kann die Jodoformprobe angewandt werden; anstatt der *Lugolschen* Lösung soll dann eine 5%ige Jodlösung benutzt werden.

Acetessigsäure (Diacetsäure) $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COOH}$

Acetessigsäure findet sich im Harn fast stets nur unter pathologischen Verhältnissen und ist sehr häufig von Aceton und β -Oxybuttersäure begleitet. Ihr Auftreten bei Diabetes verschlimmert die Prognose. Außerdem findet man sie zusammen mit Aceton bei akuten Infektions-

krankheiten nach Chloroformnarkose bei Magendarmaffektionen. Es wird angenommen daß sie sich bei allen Zuständen bildet bei denen ein intermediärer Kohlenhydratmangel besteht. Sie zerfällt sehr leicht in Aceton und Kohlensäure. Man muß daher stets den Harn in möglichst frischem Zustande untersuchen

Nachweis. 1 Probe nach Gerhardt Man versetzt 5 bis 10 cm^3 Harn mit 20 bis 30 Tropfen 10%iger Eisenchloridlösung bei Anwesenheit von Acetessigsäure entsteht eine bordeauxrote Färbung Tritt die Rotfärbung der Flüssigkeit nicht deutlich hervor so empfiehlt es sich sie vom Niederschlag des Eisenphosphates durch Filtrieren zu trennen. Eine ganz ähnliche Reaktion gibt der Harn nach innerem Gebrauch von Salicylsäure Antipyrin Thallium Phenacetin und einigen anderen Arzneisubstanzen Man muß daher zur Sicherstellung des Vorhandenseins von Acetessigsäure beim positiven Ausfall der Reaktion noch eine Kontrollprobe anstellen. Man kocht 5 bis 10 cm^3 Urin drei bis fünf Minuten lang nach dem Erkalten wird die Probe mit Eisenchlorid in angegebener Weise versetzt War Acetessigsäure vorhanden so darf die Rotfärbung nicht mehr eintreten oder sie erscheint bedeutend schwächer da die Acetessigsäure durch Kochen entfernt wird War das positive Resultat der Probe durch Arzneimittel bedingt so wird die Rotfärbung bei Zusatz von Eisenchlorid auch nach dem Kochen in gleicher Stärke oder noch intensiver erscheinen

2 Probe nach Arnold (Modifikation von Liplawsky)

Erforderliche Lösungen 1 Eine 1%ige Lösung von Paraamidoacetophenon (+ 2 cm^3 konzentrierte Salzsäure behufs leichter Lösung)

2 Eine 1%ige Kallumnitritlösung

Ausführung. 6 cm^3 der Lösung 1 und 3 cm^3 der Lösung 2 versetzt man mit dem gleichen Volumen Harn und einem Tropfen Ammoniak und schüttelt kräftig durch. Von der ziegelrot gefärbten Mischung nimmt man 0.5 bis 2.0 cm^3 setzt etwa 15 bis 20 cm^3 konzentrierte Salzsäure (spezifisches

Gewicht 1 g) 3 cm^3 Chloroform und zwei bis vier Tropfen Eisenchloridlösung hinzu worauf man das Reagensglas zukorkt und vorsichtig umrührt. Bei Anwesenheit von ~~Acetessigsäure~~ färbt sich das Chloroform violett bis marineblau (es bildet sich p-Diazoacetophenondiacetsäure)

Arzneimittel stören bei dieser Probe nicht.

β Oxybuttersäure $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH}$

Diese Säure findet sich im Harn in schweren Fällen von Diabetes und wird stets von Aceton und Acetessigsäure, die als ihre Zersetzungsprodukte betrachtet werden, begleitet. Sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links und kann infolgedessen die quantitative Bestimmung des Traubenzuckers durch Polarisation beeinträchtigen

Der Nachweis von β -Oxybuttersäure im Harn geschieht nach *Kels* in folgender Weise

Man vergärt den Harn mit Hefe und fällt mit essigsaurem Blei und einigen Tropfen Ammoniak die meisten linksdrehenden Substanzen — außer β -Oxybuttersäure — aus. Das Filtrat wird im Polarisationsapparate untersucht 1% Linksdrehung entspricht 3.07% Oxybuttersäure.

Leucin und Tyrosin.

Diese Aminosäuren scheiden sich im Harn bei Phosphorvergiftung, gelber Leberatrophie, seltener bei Infektionskrankheiten, wie Typhus und bei schweren Blutkrankheiten

Nachweis Nach *M. Weiss* versetzt man 20 cm^3 Harn mit einer gleichen Menge 96%igem Alkohol und filtriert. Zum Filtrat setzt man zwei Teile Alkohol und einige Tropfen Eisessig. Man läßt zwei Stunden stehen und untersucht den Niederschlag mikroskopisch. Nach 24 Stunden wird nochmals mikroskopiert. Im positiven Falle sind Tyrosin und eventuell Leucinkristalle sichtbar (Tafel IX, Fig. 1) Zur Bestätigung des Befundes wird die *Millonsche* Reaktion ausgeführt. Der Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, ein bis zweimal mit Alkohol gewaschen, sodann in 3 cm^3 2%iger Natronlauge gelöst und mit zwei Tropfen Eisessig angesäuert. Bei Zusatz des *Millonschen*

Reagens und leichter Erwärmung entsteht in positiven Fälle eine rote Färbung. Medikamente (Salicylate usw.) sind auszuschließen.

Die Farbstoffe und Chromogene des Harnes

A Indikan.

(Sin. Indoxylschwefelsäure)

Der normale menschliche Harn enthält nur geringe Mengen Indikan (von 1 bis 20 mg nach den neuesten Angaben von Orlow sogar bis 40 mg in der Tagesmenge). Bei pathologischen Zuständen kann die 10- bis 15fache Menge vorhanden sein. Die Muttersubstanz des Indikans, Indol, bildet sich im Darm als Produkt der Eiweißfaulnis. Nach der Resorption wird Indol zu Indoxyl oxydiert dann an Schwefelsäure gebunden und auf diese Weise als Indoxylschwefelsäure ausgeschieden. Aus dem Harn kann das Indikan durch Mineralsäure wieder in seine Bestandteile zerlegt und Indoxyl dann durch Oxydation in Indigo übergeführt werden. Unter pathologischen Verhältnissen kann eine spontane Ausscheidung von Indigo im Harn stattfinden, wobei es sich in Lösung oder im Sediment findet. Eine vermehrte Indikanausscheidung findet man bei allen krankhaften Zuständen, bei denen entweder die unverdaulichen Eiweißreste der Nahrung oder eiweißhaltige Produkte der Darmwand einen günstigen Nährboden für die Entwicklung der Faulnisbakterien im Dünndarm liefern. Es können aber auch Faulnisprodukte außerhalb des Darmes entstehen, z. B. in eitrigen Eiterherden so findet man bei eitrigen Pleuraexsudaten, putriden Bronchitis und Lungengangrän eine starke Vermehrung des Indikans im Harn. Es ist jedoch zu bemerken, daß nicht immer bei Darmfaulnis eine Indikanurie vorliegt, da das Indikan im Blute zerstört werden kann. Häufig wird eine verstärkte Darmfaulnis und eine starke Indikanurie durch mangelhafte oder fehlende Ausscheidung von Salzsäure im Magen bedingt.

Nachweis. Ein Drittel Reagensglas Harn versetzt man mit einem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure 15 Tropfen Chloroform und 2 bis 3 Tropfen 2%iger Kaliumpermanganatlösung. Das zugedruckte Reagensglas wird darauf wiederholt (15- bis 20mal) umgekehrt wobei das gebildete Indigoblau durch das Chloroform extrahiert und letzteres deutlich blau gefärbt wird. Ein stärkeres Schütteln mit Chloroform darf nicht stattfinden weil es mit dem Harn eine schwer trennbare Emulsion bildet. Bei reichlichem Eiweißgehalt des Harnes (erkennbar durch starke Trübung nach Zusatz der Salzsäure) setzt man etwas mehr Kaliumpermanganat zu (vier bis sechs Tropfen).

Die Reaktion beruht auf der Spaltung des Indikans durch Salzsäure und Oxydation des frei gewordenen Indoxyls durch Kaliumpermanganat zu Indigoblau. Mit dem Zusatz von Kaliumpermanganat muß man sehr vorsichtig sein. Man gibt anfangs nicht mehr als zwei bis drei Tropfen zu, denn bei zu starker Oxydation kann das Indigoblau sofort zu gelbem Isatin weiter oxydiert und auf diese Weise vollkommen übersehen werden. Gibt man die Permanganatlösung tropfenweise weiter zu, so wird man bemerken, daß in Indikanarmen Harnen die Blaufärbung des Chloroforms nach einigen Tropfen schon verschwindet, während in Indikanreichen bei weiterem Zusatz die Blaufärbung immer intensiver wird. Es muß eine verhältnismäßig große Menge der Lösung zugegeben werden, bis das Indigoblau vollkommen in Isatin übergegangen ist. Dieses Verhalten kann zur quantitativen Schätzung der vorhandenen Indikanmenge benutzt werden.

Man erhält nicht selten bei der Indikanprobe anstatt einer Blaufärbung eine rosarote Färbung des Chloroforms. Das geschieht nach innerem Gebrauch von Jodpräparaten. Das Jod wird dabei aus seinen Verbindungen durch Salzsäure und die Oxydationsmittel frei gemacht und bedingt eine rote Färbung des Chloroforms. Um dieselbe zu beseitigen, gibt man ein Kristall Natriumthiosulfat zu und schüttelt die Flüssigkeit. Das Jod bildet dabei farblose jodsaure Salze, und das Chloroform entfärbt sich. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Jod und Indikan entsteht eine violette Färbung des Chloroforms, die nach Behandlung mit Natriumthiosulfat einer blauen Platz macht.

Bei Gegenwart von Chrysophansäure entsteht bei der Indikanprobe eine grünlichgelbe Färbung des Chloroforms, eine gelbe erhält man nach innerem Gebrauch von Brompräparaten.

Eine rote Färbung des Chloroforms erhält man bei der Indikanprobe bei Anwesenheit von Indigorot. Dieser Farbstoff bildet sich auch, wenn man zum Harn starke Säure zusetzt, z. B. konzentrierte Salzsäure. Dieselbe Farbänderung tritt bei Anwesenheit von Skatol im Harn ein.

Von Jolles ist eine empfindliche Indikanprobe angegeben worden. 10 cm³ Harn werden mit 2 cm³ 20%iger Bleizuckerlösung geschüttelt und filtriert. Zum Filtrat setzt man 1 cm³ 5%ige alkoholische Thymollösung und 10 cm³ eisenchloridhaltige Salzsäure (0,5% Eisenchlorid in konzentrierter HCl). Nach 15 Minuten fügt man 4 cm³ Chloroform hinzu und schüttelt leicht durch. Das Chloroform färbt sich violett. Für die klinische Praxis ist sie als qualitative Probe nicht verwendbar, da sie mit jedem normalen Harn positiv ausfällt. Sie kann nur zur quantitativen Bestimmung angewandt werden, indem man die Probe mit verschiedenen Verdünnungen des Harns ansetzt (vgl. quantitative Bestimmung des Indikans im Blute).

B. Urobilin und Urobilinogen

Der normale Harn enthält ganz geringe Mengen Urobilin (nach $\text{Alder } 20 \text{ bis } 25 \text{ mg pro l})$ in Form eines Chromogens — Urobilinogen — das durch Einwirkung des Lichtes und bei Gegenwart von Säuren sehr leicht in den Farbstoff übergeht. Unter normalen Verhältnissen entsteht Urobilin (Urobilinurubin) im Darm aus dem Gallenfarbstoff Urobilin, durch Einwirkung der Darmbakterien (Reduktion). Der größte Teil des Farbstoffes und seines Chromogens (Urobilinogen) scheidet sich mit den Fäces aus, ein geringerer Teil wird durch die Darmwand resorbiert und gelangt in die Leber. Bei Störungen der Leberfunktion gelangen größere Mengen Urobilin und Urobilinogen in den Harn. Sie fehlen vollständig im Harn beim Verschluss der Gallengänge bei Phosphorvergiftungen bei schweren Nierenerkrankungen. Urobilin kann sich auch außerhalb des Darmes bilden nämlich durch Zerfall der Blutzörperchen; man findet daher Urobilinurie bei Blutergüssen. Das Verhältnis der Urobilinnmenge im Harn zum Urobilinhalt der Fäces beträgt in der Norm 1 : 10 bis 1 : 20. Bei allen Zuständen, bei denen ein gesteigerter Hämolyse stattfindet, wird eine Vermehrung des Koturobilins gefunden; im Harnurobin ist dabei nicht oder nur wenig vermehrt. Bei Lebererkrankungen, bei denen die Gesamtausscheidung des Urobilins auf kleiner ist, wird der größte Teil des Farbstoffes durch die Niere ausgeschieden, so daß der Kottinhalt auf 1 : 8 und darüber steigt.

Nachweis des Urobilins (nach Schlesinger)

Man versetzt 10 bis 15 cm³ Harn mit einem gleichen Volumen einer alkoholischen 10%igen Zinkacetatlösung und filtriert. Das Filtrat zeigt gegen einen dunklen Hintergrund gehalten eine deutliche grüne Fluoreszenz. Diese Probe ist sehr empfindlich. Die Zinkacetatlösung muß vor dem Gebrauch gut durchgeschüttelt werden.

Nach intravenösen Injektionen von Trypanblau zeigt der Harn eine grüne Fluoreszenz wie bei der Urobilinprobe (ohne Zusatz von Zinkacetat).

Urobilinogen wird mittels der Käuflichschen Aldehydreaktion nachgewiesen.

Zu 5 bis 10 cm ³ Harn setzt	10 Tropfen
einer 20%igen Lösung von Dinatrium- nitrat zu.	20 Tropfen
Bei verdünnung d	Urobilinogen
Verdünnung des	vielfach
Urobilinhalt tritt	Urobilin
bei spektroskopischer	nachweis
Absorptionsstudien	an

und *E* Urobilin gibt diese Reaktion nicht. Das Urobilinogen kann auch mittels der *Schlesingerschen* Reaktion nachgewiesen werden. Durch Zusatz von einigen Tropfen *Lugol'scher* Lösung wird das Urobilinogen in Urobilin umgewandelt und als solches festgestellt.

Ein positives Resultat bei der *Ehrlichschen* Aldehydreaktion zeigt der Harn nach innerem Gebrauch von einigen Farbstoffen, die als Harnantiseptica angewandt werden und zwar der Präparate Pyridium und Neotropin. Die rote Farbe nach dem Zusatz vom Reagens wird hier nur durch die im Reagens enthaltene Salzsäure hervorgerufen. Auch nach intravenöser Anwendung von Trypaflavin fällt die Reaktion positiv aus.

Es kann bei der Urobilinogenreaktion auch eine grüne Färbung entstehen. Diese ist nicht durch Urobilinogen bedingt, sondern durch gleichzeitige Anwesenheit von Bilirubin und Nitriten. Durch die Salzsäure des *Ehrlichschen* Reagens wird die salpetrige Säure frei und oxydiert das Bilirubin zu Biliverdin.

C. Gallenfarbstoff — Bilirubin.

Der normale Harn enthält kein Bilirubin. Es gelangt nur unter pathologischen Verhältnissen in den Blutstrom und aus ihm in den Urin. Man unterscheidet zwei Formen von Ikterus: 1. mechanischen, infolge von Gallenstauung in der Leber; 2. sogenannten hamatogenen, infolge von Erythrocytenzerfall in der Leber. Bei beiden Formen ist jedoch die Leber an dem Prozeß beteiligt, so daß man eigentlich immer mit einem hepatogenen Ikterus zu tun hat.

Ikterischer Harn zeigt eine safrangelbe rötlichbraune bis dunkelbraune (bierähnliche) Farbe. Beim Schütteln bildet sich ein gelb gefärbter Schaum.

Nachweis. Probe mit Jodtinktur (nach *Rösin*). Man überschichtet den Harn (10 bis 15 cm³) in einem Reagensglas mit einer 10%igen alkoholischen Jodlösung. Es entsteht an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein grüner Ring, der sich stundenlang hält. Die Probe ist zuverlässig und einfach und daher für die Praxis sehr zu empfehlen.

Probe nach Hammarsten. 10 cm³ Harn werden in einem Zentrifugenglas mit einigen Tropfen Chlorkaliumlösung versetzt, eine Minute zentrifugiert und der etwas trübe Abguß beseitigt. Zu dem Niederschlag fügt man 1 bis 2 cm³ von Hammarstens Reagens. Der Niederschlag

stoff vorhanden ist eine grüne Färbung. Die Reaktion ist sehr empfindlich (1 : 1 000 000). Das Reagens besteht aus 19 Teilen 25%iger Salzsäure und einem Teil 25%iger Salpetersäure. Das Gemisch wird aufbewahrt bis es gelblich wird. Vor dem Gebrauch wird das Reagens auf das Fünf- bis Zehnfache mit Alkohol verdünnt.

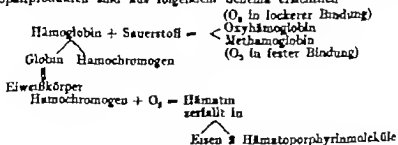
D Blutfarbstoff Hämoglobin.

Man unterscheidet folgende Arten des Hämoglobins

- 1 Oxyhämoglobin oder Sauerstoffhämoglobin.
- 2 Methämoglobin enthält ebensoviel Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin aber in stärkerer Bindung
3. Reduziertes Hämoglobin enthält weniger Sauerstoff und bildet sich aus den beiden vorigen durch Reduktion
- 4 Kohlenoxydhämoglobin.
- 5 Blausäuremethämoglobin.
- 6 Sulfhämoglobin (Verbindung mit Schwefelwasserstoff)

Bei der Untersuchung des Harnes kommen hauptsächlich nur die ersten drei Arten des Hämoglobins in Betracht

Die Beziehungen des Hämoglobins zu seinen Verbindungen und Spaltprodukten sind aus folgendem Schema ersichtlich



Alle Arten des Hämoglobins gehören zu den Eiweißkörpern und daher gibt der Harn bei ihrer Gegenwart sämtliche Eiweißreaktionen

Der Harn kann sämtliche Bestandteile des Blutes (Hämoglobin rote Blutkörperchen Plasma) enthalten (Hämaturie) oder nur den Farbstoff allein (Hämoglobinurie)

Die Anwesenheit von roten Blutkörperchen wird bei der mikroskopischen Untersuchung nachgewiesen der Farbstoff durch folgende Reaktionen

1 Die *Hellersche Probe*. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Hämatin bei Einwirkung von Natronlauge. Das Hämatin wird durch die gleichzeitig sich abscheidenden Erdphosphate aufgenommen. Man versetzt 10 bis 15 cm³ Harn mit Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaktion und erwärmt bis zum Kochen es entsteht ein flockiger rot gefärbter Niederschlag. Die Farbe tritt bei geringen Hämoglobinemengen erst nachdem der Niederschlag zu Boden gesunken ist deutlich hervor.

Entsteht beim Erwärmen überhaupt kein Niederschlag (bei Abwesenheit von Erdphosphaten) so versetzt man den Harn mit einem gleichen Volumen normalen Harnes und wiederholt die Probe.

Nach Gebrauch von Rheum Senna, Cascara sagrada und Santonin gibt der Harn eine ähnliche Reaktion. Der hamoglobinhaltige Harn unterscheidet sich dadurch, daß bei vorsichtigem Zusatz von Essigsäure sich nur ein Teil des Niederschlages auflöst nämlich die Phosphate während das Hämatin in rotbraunen Flocken zurückbleibt. In Harnen, welche die Produkte der genannten Arzneimittel enthalten verschwinden nach Säuresatz das Sediment und die Färbung vollständig.

Die *Hellersche Probe* ist nicht genügend empfindlich und soll daher in Fällen wo es sich nur um minimale Blutmengen handeln kann durch die

2. *Benzidinprobe* ersetzt werden. Diese wird in derselben Weise ausgeführt wie bei der Faecesuntersuchung (S. 103)

3 Die spektroskopische Untersuchung

Prinzip: Jede von den Hamoglobinen besitzt die Fähigkeit bestimmte Lichtstrahlen zu absorbieren, so daß sich im Spektrum bestimmte, für jede Hamoglobinnart charakteristische dunkle Streifen — Absorptionstreifen — bilden.

Von den verschiedenen Spektralapparaten sind für die Untersuchung des Harnes am besten die leicht zu handhabenden und portativen Taschenspektroskope von *Brewster* oder *Leyel* geeignet. Die Bestimmung der Lage der Absorptionstreifen im Spektrum wird in diesen Apparaten dadurch erreicht daß sie gleichzeitig mit dem Absorptionsspektrum durch eine besondere Vorrichtung (Vergleichsprisma) das normale Sonnenspektrum sehen. Sehr zu empfehlen sind auch Taschenspektroskope mit Stahl-

Zur spektroskopischen Untersuchung wird der Harn filtriert und nach Bedarf verdünnt. Hierauf gießt man den Harn in ein Gefäß mit zwei planparallelen farblosen Glaswänden (Hämatinometer*) bringt dieses dicht vor den Spalt des Spektroskopes so daß die Lichtstrahlen (einer Glas- oder Petroleumlampe oder des Tageslichtes) durch die Flüssigkeit gehen müssen. Beim Betrachten des Spektrums bestimmt man die Lage der Absorptionsstreifen durch Vergleich mit dem gewöhnlichen Sonnenspektrum das mittels einer einfachen Vorrichtung ein- und ausgeschaltet werden kann. Bei Spektroskopen mit Skala kann die Lage der Absorptionsstreifen nach Wellenlänge bestimmt werden.

Die Lage der Absorptionsstreifen im Spektrum verschiedener Hämoglobinarten und Spaltprodukte des Blutfarbstoffes ist auf der Tafel XXV dargestellt

E. Porphyrin.

Man unterscheidet zwei Arten von Porphyrin im Harn 1 Koproporphyrin, das im normalen Harn stets vorhanden ist und bei Bluterkrankten, bei perniziöser Anämie, bei schwerer Tuberkulose, nicht aber bei hämolytischem Ikterus in vermehrter Menge ausgeschieden wird. 2 Uroporphyrin ist im normalen Harn nur in minimalen Spuren vorhanden oder nicht nachweisbar. Nach *Beer* soll im normalen Harn auch Protoporphyrin vorhanden sein. Außer den erwähnten Krankheiten beobachtet man eine vermehrte Ausscheidung von Porphyrin bei Porphyrinurie congenita und Porphyrinurie acuta. Außerdem nach Gebrauch von größeren Mengen von Sulfonal und Trional.

Uroporphyrin kann von Koproporphyrin durch Bearbeitung mit Essigsäure getrennt werden. Uroporphyrin bleibt dabei unlöslich.

Porphyriinhaltiger Harn ist braunrot gefärbt, in dünnen Schichten gelbrot.

Nachweis. 100 cm^3 Harn versetzt man mit 20 cm^3 einer 10%igen Natronlauge. Die ausfallenden Phosphate reißen den Farbstoff mit. Der Niederschlag wird auf einem kleinen Filter gesammelt und zunächst mit Wasser dann mit Alkohol ausgewaschen und zum Schluß in 2 cm^3 sauren Alkohols gelöst. Die saure rotgefärbte Flüssig-

*) Anstatt des Hämatinometers kann auch ein gewöhnliches Reagentglas benutzt werden.

keit zeigt bei der spektroskopischen Untersuchung zwei Absorptionstreifen einen vor *D* und einen zweiten breiteren zwischen *D* und *E*

Will man nur Koproporphyrin nachweisen, so verfährt man folgenderweise: 100 cm^3 Harn (oder besser $\frac{1}{10}$ der Tagesmenge) werden mit 1 cm^3 konzentrierter Essigsäure versetzt, hierauf zweimal mit je 100 cm^3 Äther im Schütteltrechter ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen werden filtriert, sechsmal mit Wasser gewaschen und hierauf mit 2 cm^3 20%iger Salzsäure ausgeschüttelt. Diese Salzsäurelösung genügt zur Erkennung der typischen Absorptionstreifen in einer Schichtdicke von 1.5 cm und zur Bestimmung ihrer Wellenlänge. Eine Schätzung der Koproporphyrinmenge kann vorgenommen werden durch Verdünnung des sauren Auszuges bis zum Verschwinden der Absorptionstreifen. Normalerweise muß man zu den aus dem 15. Teil der Tagesmenge gewonnenen 2 cm^3 Salzsäurelösung noch 6 cm^3 HCl bis zum Verschwinden der Absorptionstreifen zusetzen.

F Melanin.

Der normale Harn enthält kein Melanin. Melanurie ist eine pathologische Erscheinung, und zwar tritt Melanin im Harn von Kranken, die an melanotischen Tumoren leiden, auf. Der frisch gelassene Harn enthält wahrscheinlich nur das Chromogen-Melanogen, das erst durch Oxydation in Melanin übergeführt wird. Der melaninhaltige Harn ist dunkel gefärbt und wird beim Stehen an der Luft schwarzbraun bis schwarz.

Ein ähnliches Verhalten zeigt der Harn bei Carbol- bzw. Lysolvergiftungen. Nach Weiss handelt es sich dabei um Carbol Melanine.

Nachweis Probe nach Braun. Der frische melanogenhaltige Harn wird mit einigen Kubikzentimetern heiß gesättigter und erkalteter Kaliumpersulfatlösung versetzt und gekocht. Der Harn schwärzt sich und setzt wenn nicht nur Spuren des Farbstoffes vorhanden sind Melanin nach Ansäuern mit Salzsäure ab.

Melaninharn zeigen (nicht immer) bei der Legal'schen Acetonprobe folgendes Verhalten. Nach Zusatz von Natriumnitroprussid und Natronlauge eine rotviolette, nach Zusatz von Essigsäure eine blaue Farbe (*Thormalensche* Reaktion). Die *Ehrlichsche* Aldehydreaktion gibt nicht selten mit Melaninharnen ein positives Resultat. Zusatz von einem Tropfen Formalin und Unterschichtung mit konzentrierter Schwefelsäure erzeugt in Melaninharnen eine violette Färbung.

Die Ascorbinsäure (Vitamin C) zeigt ebenfalls eine Blaufärbung bei der *Thermalischen Reaktion*. Die Färbung verschwindet aber bald wieder während die echte Melangenreaktion sich längere Zeit hält.

Die Diazoreaktion.

Nach den neueren Untersuchungen (*Herrmann und Sachs, Bau- mann*) ist die Ursache der von *Ehrlich* entdeckten Diazoreaktion nicht wie *Weiß* annimmt das Urochromogen, sondern verschiedene Ätherschwefelsäuren zum Teil Oxydationsprodukte des Tyrosins.

Zur Ausführung der Reaktion sind zwei Lösungen notwendig

1. Natrii nitrosi	0.5	2. Acidi sulfanilici	5.0
Aquae destillatae	100.0	Acidi hydrochlorici	50.0
		Aquae destillatae	1000.0

Aus Natrium nitrosum und Sulfanilsäure entsteht Diazobenzolsulfonsäure daher die Bezeichnung der Reaktion

Man mischt ex tempore 2 cm^3 der ersten mit 98 cm^3 der zweiten Lösung (Für eine einzelne Probe nimmt man auf 10 cm^3 der zweiten Lösung zwei Tropfen der Lösung 1.) Die Reaktion wird folgenderweise ausgeführt

8 bis 10 cm^3 Urin versetzt man im Reagensglas mit einer gleichen Menge der Reagensmischung schüttelt kräftig bis zur Schaumbildung durch und gibt zirka 1 cm^3 Ammoniak zu. Die Reaktion ist als positiv zu betrachten wenn der Schaum und die Flüssigkeit sich scharlachrot färben. Normale Urine geben bei dieser Probe nur eine gelbe Färbung. Nach 24stündigem Stehen der positiv ausgefallenen Probe setzt sich ein Niederschlag ab dessen oberer Teil blan grün oder schwarz gefärbt ist.

Eine ähnliche Reaktion zeigt der Harn nach innerem Gebrauch von Naphthalin und Atophan. Dagegen verschwindet nach Einnahme von Gerbsäurepräparaten die vorher deutlich ausgesprochene Reaktion vollständig.

Die Diazoreaktion ist positiv bei Typhus abdominalis Masern akut verlaufender Lymphogranulomatose zu weilen bei Grippe und im progressiven Stadium der Tuberkulose.

Die Urochromogenreaktion nach Heß

Man bringt den klaren filtrierten Harn in ein Reagensglas bis zu einem Drittel der Höhe verdünnt mit einer doppelten Menge Wasser schüttelt durch und verteilt die Flüssigkeit auf zwei Reagensgläser. Zu einem fügt man drei Tropfen einer 1%igen Kalpermanganatlösung hinzu. Bei positivem Ausfall der Reaktion tritt eine Zunahme der gelben Farbe ein. Die Intensität der Reaktion ist der Stärke der Diazoreaktion proportional. Die Anwesenheit von Urobilin und Bilirubin stört sehr wesentlich bei dieser Reaktion. Man muß daher in intensiv gefärbten Harnen die Farbstoffe durch Ausfällung mit Ammoniumsulfat beseitigen. Zu 20 cm^3 Harn setzt man etwa 16 g Ammonsulfat hinzu, rührt öfters um und läßt eine viertel bis eine halbe Stunde stehen. Hierauf wird filtriert. Die Probe wird dann mit dem Filtrat angestellt.

Nachweis der salpetrigen Säure (Nitrit) (zur Feststellung einer Harninfektion). Salpetrige Säure bildet sich aus salpetersauren Salzen (Nitraten) durch Einwirkung von Bakterien. Die freie salpetrige Säure macht aus Jodsalzen das Jod frei. Darauf beruht ihr Nachweis. Da sie im Harn in Salzform ausgeschieden wird, muß sie durch eine Säure freigemacht werden.

Die Probe auf Nitrit wird folgenderweise ausgeführt. Zu 5 bis 8 cm^3 des frischen Harnes setzt man 1 cm^3 verdünnte Salzsäure und vier Tropfen einer etwa 2%igen Kaliumjodidlösung (etwa ein kleines Körnchen Jodkali auf 5 cm^3 destilliertes Wasser) hinzu, worauf so viel Chloroform zugesetzt wird, daß die Kuppe des Reagensglases gefüllt ist. Man schüttelt wie bei der Indicanprobe aus. Bei Anwesenheit von Nitrit färbt sich das Chloroform rosa bis rot.

Beweisend ist nur das positive Resultat, der negative Ausfall schließt eine Infektion nicht aus.

Es ist ferner zu berücksichtigen, daß Streptokokken, Gonokokken und Tuberkelbacillen keine Nitritbildner sind.

Zufällige Bestandteile des Harnes

Von der großen Zahl der zufälligen Harnbestandteile, die hauptsächlich aus den eingeführten Arzneimitteln herrühren sollen hier nur diejenigen berücksichtigt werden die einerseits leicht nachgewiesen werden können an dererseits eine gewisse klinische bzw therapeutische Bedeutung haben.

Blei. Nachweis. Eine Tagesportion Harn wird auf dem Wasserbad in einer Schale auf den fünften Teil eingengt mit derselben Menge konzentrierter Salzsäure versetzt weiter erwärmt und dabei messerspitzenweise so viel chloresäures Kali zugesetzt bis die Flüssigkeit entfärbt ist. Hierauf wird bis zum vollkommenen Verschwinden des Chlorgeruches eingedampft die überschüssige Chloresäure mit Natriumcarbonat bis zur schwach sauren Reaktion neutralisiert jetzt wird abfiltriert und in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet Ist ein schwärzlicher Niederschlag entstanden (Bleisulfid) so wird er auf einem kleinen Filter gesammelt und ausgewaschen Dann bringt man das Filter samt Niederschlag in ein Becherglas, übergießt es tropfenweise mit heißer verdünnter Salpetersäure erwärmt bis zur Lösung des Schwefelbleies verdünnt mit Wasser und filtriert Das Filtrat wird durch Eindampfen zur Trockne von der freien Salpetersäure befreit der Rückstand in wenig Wasser gelöst Diese Lösung dient zur Anstellung der Bleireaktionen 1 Verdünnte Schwefelsäure erzeugt einen weißen 2 Kaliumchromat einen gelben 3 Kaliumjodid einen gelben 4 Schwefelwasserstoff einen schwarzen Niederschlag

Quecksilber Nachweis nach Perlstein und Abelin 500 cm^3 Harn werden in einem Literkolben unter Zusatz von 10 cm^3 konzentrierter Salzsäure zum Sieden erhitzt eine Minute gekocht und unter der Wasserleitung abgekühlt Man setzt nun zirka 5 bis 6 cm^3 Ammoniak oder einige Kubikzentimeter Natronlauge (die Reaktion bleibt dabei schwach sauer) darauf 20 bis 25 g Natriumacetat

und 10 cm^3 10%iger Ferrichloridlösung hinzu erhitzt nochmals zum Sieden filtriert heiß durch einen mittel großen Filter und wäscht den Niederschlag mit wenig heißem Wasser nach. Der feuchte Niederschlag wird in einer Porzellanschale in möglichst wenig konzentrierter Salzsäure gelöst und in ein Kristallisierschälchen filtriert. Man bringt in die so gewonnene „Endlösung“ deren Volumen meistens 15 bis 20 cm^3 beträgt 4 bis 5 mm breite und zirka 15 mm lange Streifen aus blankem Kupfer. Nach zwei Stunden wird die Flüssigkeit sorgfältig abgegossen, die Kupferstreifen werden zuerst im Schälchen mit destilliertem Wasser, dann mit Alkohol, zum Schlusse mit Äther gewaschen und auf ein Stück Filtrierpapier ausgeschüttet. Nach zwei Minuten werden die Kupferbleche ohne daß man sie mit den Fingern berührt in ein vollkommen trockenes im Exsiccator aufbewahrtes und sauberes Reagensglas gebracht. Das Reagensglas wird von unten ganz vorsichtig erhitzt, bis die Kupferstreifen eine stahlgraue Farbe angenommen haben. Nach dem Erkalten werden sie aus dem Reagensglase ausgeschüttelt. Man bringt jetzt in das Reagensglas ein minimales Körnchen Jod hinein und erwärmt von unten ganz gelinde, bis die Joddämpfe das ganze Innere des Reagensglases ausgefüllt haben. Es bildet sich, falls im Harn etwas mehr als 0.1 mg Quecksilber vorhanden war, sofort ein roter Belag von Quecksilberjodid. Ist die Quecksilbermenge geringer, so entsteht der Spiegel oft erst nach ein paar Stunden. Ist der Spiegel nicht sehr groß, so sieht man ihn am deutlichsten, wenn man in das Innere des Reagensglases schaut, wobei man es gegen einen dunklen Hintergrund (schwarzes Glanzpapier) hält.

Die Ausscheidung des Quecksilbers kann durch Zusatz von gelöstem Eiweiß und seine Koagulation durch Hitze erreicht werden. — Das Quecksilber scheidet sich dabei als Albuminat aus. Das gewonnene Eiweiß wird abfiltriert, zwischen Fließpapier getrocknet und hierauf mit 5 bis 10 cm^3 konzentrierter Salzsäure verrieben und zusammen mit Kupferstreifen über Nacht stehen gelassen.

Die weitere Behandlung wie bei der Methode von *Perlstein* und *Abelin*. Auf 500 cm^3 Harn setzt man etwa 3 cm^3 Eierweiß oder 5 bis 10 cm^3 Ascitesflüssigkeit. Das Eierweiß muß vorher mit einer kleinen Harnmenge gut verrieben und zur Auflösung gebracht werden.

Die Methode ist empfindlich und gestattet mit Sicherheit 0.1 mg Quecksilber in 500 cm^3 Harn nachzuweisen.

Zum Nachweis kleinerer Mengen wird die von *Stöck* angegebene Methode angewandt, sie ist für die klinische Praxis zu kompliziert und zeitraubend.

Arsen wird im Harn nach *Gutzeit* wie folgt nachgewiesen. 1 cm^3 Urin versetzt man in einem Zylinderglas oder weitem Reagensglas mit 4 cm^3 verdünnter Schwefel- oder Salzsäure und einem Stückchen arsenfreien Zinks. Man verschließt das Gefäß mit einem Wattebausch und bedeckt mit einem mit konzentrierter (1:1) Silbernitratlösung befeuchteten Filter. Nach 10 bis 15 Minuten entsteht eine citronengelbe Färbung des Filters, die bei längerem Stehen durch Bildung von metallischem Silber (aus dem gelben Arsensilber) in eine schwarze übergeht. Im Harn ist die Probe ziemlich zuverlässig, weil er äußerst selten Substanzen enthält, die die Reaktion beeinträchtigen können.

Zum Nachweis von **Salvarsan** sowie anderer organischer Arsenverbindungen werden größere Harnmengen durch Eindampfen konzentriert, alsdann mit konzentrierter Salzsäure und Kaliumchlorat bis zur Lutfärbung behandelt. Nach Vertreiben des Chlors durch Erwärmen wird die Flüssigkeit nach der Methode von *Marsch* auf Arsen geprüft.

Sehr empfindlich ist die biologische Methode von *Gorsio*. Man bringt einige Kubikzentimeter des zu untersuchenden Harnes auf Brotbrei, der sich in einem Reagensglas oder kleinem Kölbchen befindet. Man sterilisiert das Gemisch in der üblichen Weise (am einfachsten im Kochschen Dampftopf) und beimpft hierauf diesen Nährboden mit einer Reinkultur von *Penicillium brevi*.

caule. Nach ein bis dreitägigem Wachstum bei 37°C entwickelt sich ein Knoblauchgeruch (schon bei 0.001 mg Arsen fällt die Probe positiv aus). Die Methode beruht darauf daß manche Schimmelpilze bei Gegenwart von Arsen ein nach Knoblauch riechendes Gas entwickeln.

Bismut (nach *Detani*) 5 bis 10 cm³ Harn versetzt man im Zentrifugenglas mit 1 bis 15 cm³ 1%igem Calciumphosphat in konzentrierter Salzsäure man schüttelt gut durch und setzt Ammoniak (etwa 3 cm³) bis zur alkalischen Reaktion hinzu zentrifugiert und wäscht den Bodensatz mit 5 cm³ Wasser aus. Hierauf setzt man zwei bis drei Tropfen Salzsäure und 1 cm³ Wasser zu das zwei bis drei Tropfen einer 26%igen Jodkalilösung enthält. Der Bodensatz löst sich auf und es entsteht falls Bismut vorhanden ist eine gelbe bis orange Färbung. Bei negativem Ausfall der Reaktion ist die Flüssigkeit farblos.

Jodalkalien bzw organische Jodpräparate (Jodol Jodoform usw.) Man versetzt 10 bis 15 cm³ Harn mit fünf bis zehn Tropfen konzentrierter gelber Salpetersäure und 1 bis 2 cm³ Chloroform und kehrt das mit einem Kork verschlossene Reagensglas mehrmals um. Das Chloroform färbt sich durch das freigewordene Jod schön violettrot. Die Färbung verschwindet nach Zusatz einer geringen Menge Natriumthiosulfat. Wie schon oben erwähnt wurde scheidet sich auch bei der Indicanprobe Jod aus und verursacht ebenfalls eine violettrote Färbung des Chloroforms. Die Proben erlauben geringe Mengen Jods im Urin (0.005) mit Sicherheit nachzuweisen.

Bromalkalien und Brompräparate werden gleichfalls bei der Indicanprobe entdeckt. Die Probe ist nicht empfindlich (nicht unter 0.1 Bromkalium nachweisbar). Das Chloroform wird dabei gelb gefärbt.

Chrysophansäure (Dioxymethylantrachinon) erscheint im Harn nach Gebrauch von Rheum Senna Chrysarobin und Cascara sagrada. Der Harn zeigt eine intensiv gelbe oder grünlichgelbe Färbung. Alkalische

Formaldehyd wird im Urin mit Phloroglucin und Natronlauge nachgewiesen es entsteht eine rote Färbung

Phenol (Carbolsäure) scheidet sich im Harn zum größten Teile als Phenolschwefelsäure aus. Der Harn ist grünlichbraun gefärbt und wird beim Stehen noch dunkler. Die dunkle Farbe des Phenolharnes hängt nach *Baumann* mit der Bildung von Hydrochinon zusammen letzteres gibt bei weiterer Oxydation die braungefärbten Substanzen (Carbolmelanine)

Nachweis Das Phenol kann nicht direkt im Harn nachgewiesen werden (da er kein freies Phenol enthält) sondern muß erst isoliert werden. Da aber der normale Harn auch geringe Mengen von Phenolverbindungen enthält (zirka 0.03 in der Tagesmenge) so wird nur eine starke Vermehrung derselben für das Vorhandensein einer Carbolvergiftung beweisend sein. Zur Isolierung des Phenols destilliert man eine größere Menge Harn nach Zusatz von Schwefelsäure (auf 100 cm³ 5 bis 10 cm³ Schwefelsäure) solange bis das aus der Ätherschwefelsäure abgespaltene Phenol abdestilliert ist*). Man neutralisiert das Destillat mit reinem kohlensauren Natrium und destilliert nochmals. Mit dem Destillat werden folgende Proben ausgeführt

a) Nach Zusatz einiger Tropfen einer neutralen Eisenchloridlösung blauviolette Färbung

b) Mit Bromwasser entsteht ein gelblichweißer kristallinischer Niederschlag von Tribromphenolbrom. Der Niederschlag löst sich in Natronlauge und wird aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure wieder als Tribromphenol in gelben kristallinischen Nadeln ausgefällt.

c) Mit salpetriger Säure scheidet sich Stickstoff aus.

Veronal, Medinal, Proponal, Phanodorm und Luminal (Barbitursäurederivate) werden nach *Harder* nachgewiesen: 100 cm³ Harn werden mit Essigsäure angesäuert und mit Äther besser aber mit warmem Äthylacetat kräftig ausgeschüttelt. Nach Absetzen wird der

*) Man erkennt es daran daß das Destillat mit Bromwasser keine Trübung bzw. Niederschlag mehr gibt.

Harn bis zur Emulsion abgelaßen und diese nach Zusatz von etwas absolutem Alkohol unter vorsichtigem Umschwenken beseitigt. Man läßt das Extraktionsmittel verdunsten, gibt 30 cm^3 officinellen Wasserstoffsuperoxyd und eine Spatelspitze Ammoniumchlorid hinzu und dampft in einer Schale zunächst auf dem Drahtnetz, zum Schluß in einiger Entfernung über demselben ein. Bei Anwesenheit von Barbitursäurederivaten zeigt der Rückstand intensiv gelbrote Verfärbung und gibt die Murexidreaktion.

VI Die quantitative chemische Untersuchung des Harnes

Eiweißbestimmung

a) Methode von Roberts und Stolnsko// modifiziert von Brandberg

Prinzip Enthalt der Harn in 100 cm^3 0.0033 g Eiweiß, d. h. 0.033%₁₀₀, so wird bei der *Hellerschen* Ringprobe die ringförmige Trübung erst zwei bis drei Minuten nach der Ausführung der Probe erscheinen. Auf dieser Tatsache beruht die Methode. Man verdünnt den zu untersuchenden Harn so lange mit Wasser, bis bei der *Hellerschen* Probe der Ring erst nach zwei bis drei Minuten auftritt. Aus der dazu notwendigen Verdünnung läßt sich der Eiweißgehalt des unverdünnten Harnes leicht berechnen.

Ausführung Man bereitet zuerst eine zehnfache Verdünnung des zu untersuchenden Harnes. man mißt mit einer Pipette 5 cm^3 Harn ab, bringt ihn in ein Zylinderglas und gibt 45 cm^3 Wasser zu. Das Gemisch wird durchgeschüttelt und ein Teil desselben zu einer *Hellerschen* Probe verwendet. Entsteht dabei nach zwei bis drei Minuten kein Ring, so ist die Verdünnung zu groß und es wird infolgedessen aus dem unverdünnten Harn eine fünf- oder dreifache Verdünnung gemacht. Erscheint aber bei der zehnfachen Verdünnung der Ring sofort, so verdünnt man den Harn weiter, indem man aus der zehnfachen eine 30- 50- 100fache Verdünnung herstellt, bis man zu einer Verdünnung gelangt, bei welcher der Ring erst nach zwei bis drei Minuten erscheint. Ist man in der Ausführung der Methode ein wenig geübt, so ist es leicht, nach der Intensität der ringförmigen Trübung annähernd die notwendige Verdünnung zu schätzen und man wird daher die ganze Bestimmung ziemlich rasch ausführen können. Die Menge des Eiweißes im Liter Urin erhält man durch Multiplikation der

Zahl 0.033 mit der Zahl der Verdünnung. Ist z. B. der Ring nach zwei bis drei Minuten in der 30fachen Verdünnung des Urins erschienen, so enthält der unverdünnte Urin $0.033 \times 30 = 0.99\%$ Eiweiß. Die Methode gibt für klinische Zwecke vollkommen brauchbare Resultate. Sie muß aber sorgfältig und genau ausgeführt werden, besonders muß darauf geachtet werden, daß die *Hellersche* Probe jedesmal *lege artis* vorgenommen wird.

b) Methode von *Esbach*

Prinzip. Das *Esbachsche* Reagens besteht aus einer Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Citronensäure im Liter Wasser. Mit diesem Reagens wird das Eiweiß aus einem bestimmten Volumen Harn ausgefällt, und aus der Höhe des erhaltenen Eiweißniederschlags wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harnes an Eiweiß geschätzt.

Ausführung. Man füllt den *Esbachschen* Albuminometer (ein gradwertes Röhrchen mit rundem [nicht konischem] Boden) mit dem filtrierten Urin bis zur Marke U, darauf wird bis zur Marke R die Reagenslösung zugegeben, das Röhrchen mit dem Kautschukstopfen verschlossen und ohne zu schütteln zehn bis zwölfmal umgekehrt. Man läßt das Röhrchen in einem Gestell aufrecht stehen und liest nach 24 Stunden die Höhe des Niederschlages ab. Die Zahlen zeigen in Gramm die Eiweißmenge in 1000 cm^3 Urin an. Der Harn darf nicht mehr als 4% Eiweiß enthalten; bei größerem Eiweißgehalt ist der Harn entsprechend zu verdünnen. Die Methode gibt keine genauen und verlässlichen Resultate. Nicht selten bildet sich auch in eiweißfreien Harnen ein Niederschlag.

c) Gewichtsanalytische Bestimmung

100 cm^3 des filtrierten Harnes werden mit ein bis zwei Tropfen Essigsäure versetzt und in einem Wasserbade so lange erhitzt, bis eine flockige Ausscheidung des Eiweißes stattgefunden hat. Der Niederschlag wird auf einem vorher bei 110° getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, mit heißem Wasser und dann mit Alkohol und Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und dann gewogen. Das Filter mit dem

Inhalt wird darauf im Platintiegel verbrannt verascht und gewogen und die Asche von dem Erweißgewicht abgezogen

Man kann auch anstatt der Gewichtsmethode das koagulierte und ausgewaschene Eiweiß nach *Kjeldahl* behandeln (s. S. 213) und den Eiweißstickstoff bestimmen. Man multipliziert alsdann die gefundene Stickstoffmenge mit 6,25 und erhält die Eiweißmenge.

Diese Methode liefert die einzig richtigen Resultate ist aber leider für klinisch praktische Zwecke zu kompliziert und zeitraubend

Zuckerbestimmung

a) Durch Polarisation. Man bedient sich am besten zur quantitativen Bestimmung des Zuckers eines Halbschattenapparates der für weißes Lampenlicht eingerichtet ist und eine direkte Ablesung des Zuckergehaltes in Prozenten ermöglicht. Zum Zweck der Polarisation muß der Harn erst entsprechend vorbereitet werden und zwar sind folgende zwei Bedingungen zu erfüllen

1. Der Harn muß vollkommen klar und darf nicht intensiv gefärbt sein. Trübe Harne werden daher filtriert während stark gefärbte mit Bleiessig entfärbt werden. zu zirka 50 cm³ Harn setzt man einige Messerspitzen gepulverten neutralen Bleiacetats schüttelt die Flüssigkeit durch und filtriert durch ein trockenes Filter Harne die durch filtrieren nicht geklärt werden können werden ebenfalls mit Bleiacetat behandelt.

2. Der Harn muß frei von Eiweiß sein da dasselbe nach links dreht bei geringem Eiweißgehalt (unter 0,1%) kann man diese Linksdrehung vernachlässigen bei größerem Eiweißgehalt muß das Eiweiß durch Kochen entfernt und der Harn auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden. Die Enteiweißung kann unterbleiben wenn der Eiweißgehalt bestimmt wird. Man braucht dann nur zum abgelesenen Zuckergehalt den Prozentgehalt (nicht Promille) des Eiweißes zuzurechnen.

Den klaren möglichst farblosen Harn gießt man in das Beobachtungsröhrchen des Polarisationsapparates wobei man darauf achtet daß die Flüssigkeit eine Kuppe über dem Röhrchen bildet dann schlebt man von der Seite her die gut gereinigte und vollkommen trockene Deckplatte auf so daß keine Luftblase in dem Röhrchen ist jetzt setzt man die Messingkappe darüber Man stellt alsdann im Apparat den Nullpunkt ein und legt darauf das Beobachtungsröhrchen hinein. Enthält der Harn Traubenzucker so wird man eine Verdunklung der rechten Hälfte des Gesichtsfeldes sehen Durch Drehung der Schraube stellt man die Quarze wieder so ein daß sie wie bei dem Nullpunkt gleich hell sind. Die Skala zeigt dann den Prozentgehalt an Zucker

Für die Praxis ist die Polarisationsmethode genügend genau. Nur größere Mengen von Glucuronsäureverbindungen β -Oxybuttersäure und Lävulose können Fehler veranlassen.

Bei der Prüfung der Leberfunktion kommt die Ausscheidung der Galaktose in Frage, da dabei dieses Spaltungsprodukt des Milchruckers in einer Menge von 40 g vom Patienten eingenommen wird. Der Lebergesunde scheidet in den ersten vier bis sechs Stunden bis 8 g Galaktose, der Leberkranke mehr aus. Bei perniziöser Anämie wird in den ersten vier bis sechs Stunden Galaktose nicht ausgeschieden. Da die Galaktose ein größeres Drehungsvermögen als der Traubenzucker hat, so muß der gefundene Wert mit fünf Achtel multipliziert werden. Enthält der Harn nur Milchrucker so wird die abgelesene Rechtsdrehung mit 0.947 multipliziert

b) Gärungsmethoden nach Roberts.

Prinzip. Der Zuckergehalt wird aus dem Unterschiede des spezifischen Gewichtes vor und nach der Gärung bestimmt. Durch Versuche hat Roberts festgestellt daß das Zurückgehen des spezifischen Gewichtes um 0.001 einem Zuckergehalt von 0.230% entspricht.

Ausführung. Man bestimmt das spezifische Gewicht des Harnes bei 15°C nachdem man etwa 50 cm³ Harn mit einem haselnußgroßen Stück Hefe verrieben hat. Man läßt hierauf das Gemisch vergären. Nach 24-stündigem Stehen überzeugt man sich (durch die üblichen qualitativen Proben) daß der Zucker vollkommen verschwunden ist und wenn das der Fall ist bestimmt man wieder das spezifische Gewicht bei 15°C Beispiel

Das spezifische Gewicht vor der Gärung	1.030
Nach dem Vergären	1.020
Differenz	0.010
Der Harn enthält	$0.230 \times 10 = 2.30\%$ Zucker

Die Methode gibt unter der Bedingung daß die Bestimmung des spezifischen Gewichtes äußerst sorgfältig ausgeführt wird und der Harn nicht unter 0.5% Zucker enthält ziemlich genaue Resultate.

c) Die Gärungsmethode nach Komarski

Der Apparat (Fig. 25) besteht aus dem Behälter *A* dem das Steigerrohr *C* angeschlossen ist. Im Halse des Behälters befindet sich das passend geschliffene Stöpselröhrchen *B* welches im oberen Teile eine eisförmige Öffnung (*O*) besitzt. Dieser Öffnung entspricht eine kleine runde Öffnung (*E*) im Halse des Behälters. Das Röhrchen trägt eine Marke entsprechend 0.4 cm^3 .

Dem Apparat sind beigelegt

1 Zwei gebogene Pipetten (die eine zur Einfüllung des zu untersuchenden Harnes die andere zum Ausspülen des Hefe-Harngemisches nach Beendigung der Bestimmung)

2 Ein gebogener Draht.

3 50 cm^3 Paraffinol

4 Ein Thermometer

5 Dauer Hefe für 50 Bestimmungen

6 Ein Dewargefaß welches als Wasserbad dient

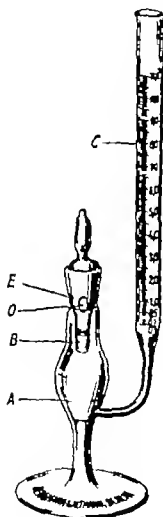
Prinzip

Für diese Methode wird eine speziell hergestellte Dauerhefe benutzt.

Sie enthält einen Gärungs-Aktivator (primäres Kaliumphosphat) wodurch der Gärungsprozeß bedeutend beschleunigt wird so daß eine Bestimmung die sonst bis 24 Stunden dauern würde bei Zimmertemperatur nur drei bis sechs Stunden und bei einer Temperatur von 30 bis 40°C nur eineinhalb bis

drei Stunden in Anspruch nimmt. Statt Quecksilber wird als Meßflüssigkeit Paraffinöl benutzt.

Fig. 25



Ausführung der Bestimmung Man füllt Paraffinöl in den Behälter bis zum roten Strich unter dem Nullpunkt. Hierauf wird mittels der gebogenen Pipette Harn durch die eiförmige Öffnung in das Stöpselröhrchen gefüllt, und zwar bis zur Marke dabei ist darauf zu achten daß der tiefste Punkt der Flüssigkeitsoberfläche den Strich berührt. Darnach bringt man ein Kugelförmiges Hefe in den Harn bestreicht den geschliffenen Teil des Stöpselröhrchens mit Paraffinöl und steckt es in den Hals des Behälters so daß die Öffnungen aufeinander liegen. Jetzt neigt man den Apparat in der Richtung des Steigerohres bis die Flüssigkeit im Steigerohr genau auf den O-Strich kommt. Ist dies geschehen so dreht man das Röhrchen so daß die Öffnungen nicht mehr aufeinander liegen. In das Wasserbad füllt man jetzt Wasser von etwa 40 bis 42°C stellt den Apparat in die Flüssigkeit und schließt mit dem Korken. Das Steigerohr kommt in die Öffnung des Korkens. Bei alkalischer Reaktion des Harnes wird zur Ansäuerung ein Tropfen 10%ige Weinsäure hinzugefügt. Das Wasser

soll nur bis zum Halse des Apparates reichen

Der Apparat bleibt in dem Wasserbad bis der Gärungsprozeß beendet ist dies wird dadurch angezeigt

daß die Flüssigkeit im Steigrohr nicht mehr höher steigt. Der Apparat wird dann zur Abkühlung in ein Gefäß mit Wasser von 20°C gebracht worin er eine halbe Stunde stehen bleibt. Hierauf wird der Prozentgehalt des Zuckers abgelesen. Mengen unter 0.1% sollen für die Diagnose nicht verwertet werden da diese eventuell auch bei gesunden Menschen zu beobachten sind. Um den Zeitpunkt des Abschlusses des Gärungsprozesses rechtzeitig festzustellen ist es zweckmäßig bereits nach einer Stunde den Stand der Meßflüssigkeit zu notieren wonach jede weitere halbe Stunde beobachtet werden muß. Bei Zuckermengen bis zu 1% ist meist schon nach der ersten Stunde die Gärung abgeschlossen bei mittleren Mengen (von 3 bis 5%) nach zwei Stunden nur bei großen Mengen (von 5 bis 10%) dauert die Gärung zweieinhalb bis vier Stunden.

Die Reinigung des Apparates erfolgt in der Weise daß zunächst das Gemisch des Harnes und der Hefemittels der zweiten Pipette entfernt wird worauf einige Male mit Wasser nachgespült wird. Man wickelt jetzt auf das gebogene Ende des Drahtes ein kleines Stückchen Watte und trocknet damit die innere Oberfläche des Röhrchens. Die Pipetten müssen gut mit Wasser ausgespült und trocken aufbewahrt werden. Das Paraffinol bleibt im Apparat.

Die Methode liefert gute Resultate.

Bestimmung des gesamten Stickstoffes.

Der Stickstoffgehalt des Harnes wird gewöhnlich nach der Methode von *Kjeldahl* bestimmt.

Das Prinzip des Verfahrens besteht darin daß sämtliche stickstoffhaltige Substanzen durch Kochen mit Schwefelsäure in Ammonsulfat übergeführt werden. Aus dem letzteren wird das Ammoniak durch Übersättigung mit Natronlauge freigemacht und in titrierter Schwefelsäurelösung aufgefangen. Aus der Menge der durch Ammoniak gebundenen Säure wird der NH_4 -Gehalt und aus dem letzteren der N-Gehalt berechnet.

Ausführung. 5 cm^3 Harn versetzt man in einem sogenannten Kjeldahlkolben (aus hartem Glas) mit 10 cm^3 Kjeldahlschwefelsäure (ein Gemisch aus drei Teilen reiner und einem Teil rauchender Schwefelsäure) und einigen

Tropfen einer gesättigten Kupfersulfatlösung. Der Kolben wird alsdann auf einem Sandbad unter dem Abzug solange erhitzt, bis die Flüssigkeit sich entfärbt hat. Man läßt die Flüssigkeit erkalten und gießt dann unter Umschwenken zirka 50 cm^3 destilliertes Wasser zu. Die wiederum heiß gewordene Flüssigkeit bringt man in einen 1 l fassenden Destillationskolben und spült zwei bis dreimal mit destilliertem Wasser nach. Der Kolbeninhalt wird jetzt mit 40%iger Natronlauge (zirka 40 bis 60 cm^3) bis zur alkalischen Reaktion versetzt und sofort destilliert. Der Zusatz von Natronlauge soll rasch ausgeführt werden, um Verluste an Ammoniak zu vermeiden. Das Destillierrohr muß einen Kugelsatz haben, um das Überspritzen von Natronlauge in die Vorlage zu verhindern. Das Destillat wird in einer mit 50 cm^3 0.1 n-Schwefelsäure beschickten Vorlage gesammelt*) 20 bis 30 Minuten nach Beginn des Kochens ist die Destillation vollendet, was eventuell durch starkes Stoßen der Flüssigkeit (infolge der beginnenden Ausscheidung von Natriumsulfat) zu erkennen ist. Man öffnet dann den Kork des Destillationskolbens, dreht die Flamme aus, spült das Destillierrohr mit Wasser in die Vorlage aus und titriert die letztere mit 0.1 n Natronlauge unter Anwendung von alizarinsulfonsaurem Natrium (10%) als Indikator. Die Lauge wird solange zugesetzt, bis eine bleibende violette Färbung der Flüssigkeit entsteht. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter 0.1 n Lauge zieht man von der Zahl der in Vorlage gebrachten Kubikzentimeter 0.1 n Schwefelsäure ab. Die Differenz mit 0.0014 multipliziert ergibt die Zahl der in der angewandten Harnmenge enthaltenen Gramm Stickstoff, woraus der Prozentgehalt berechnet wird. Es empfiehlt sich, zur Kontrolle gleichzeitig zwei Proben aus demselben Harn zu verarbeiten.

Die Bestimmung des Harnstickstoffes kann auch nach der vereinfachten kolorimetrischen Mikromethode von Kowarski ausgeführt werden. Man ver-

*) Ist das spezifische Gewicht des Harnes höher als 1020, so bringt man 75 cm^3 0.1 n-Schwefelsäure in die Vorlage.

führt hierbei ebenso wie bei der Bestimmung des Reststickstoffes nach der Enteiweißung des Blutes. Zur Verbrennung im Mikrokjeldahlkolben nimmt man 25 *cm*³ des hundertfach verdünnten enteiweißten Harnes. Bei der Berechnung ist zu berücksichtigen, daß zur Bestimmung eine zehnmal geringere Menge genommen wurde, infolgedessen muß das Resultat mit zehn multipliziert werden.

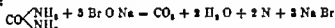
Die Tagesmenge des Gesamtstickstoffes beträgt beim gesunden Menschen 10 bis 15 g. Nach *Camerer* entfallen 83% des Stickstoffes auf Harnstoff, 5% auf Ammoniak, 1·6% auf Harnsäure, 0·2% auf Purinbasen, 2% auf Kreatinin, 0·5% auf Hippursäure, der Rest auf andere Stoffe.

Bei Krankheiten verläuft im allgemeinen die Stickstoffausscheidung der Harnstoffausscheidung parallel. Eine Ausnahme bilden 1 die akute Leberatrophie, bei der der Stickstoff in Form von Leucin und Tyrosin ausgeschieden wird, während der Harnstoff bis zum Fehlen vermindert ist; 2 die Acidose bei der Zuckerkrankheit, wobei beträchtliche Mengen von Ammoniak ausgeschieden werden.

Harnstoffbestimmung

Nach der Brommethode.

Prinzip: Der Harnstoff wird durch eine alkalische Lösung von unterbromigsaurem Natron in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser zersetzt:



Die Kohlensäure wird von Natron gebunden, während die Menge des entwickelten Stickstoffes volumetrisch bestimmt wird. Aus ihr wird der Harnstoff berechnet.

Ausführung. Die Bestimmung wird am bequemsten mit dem von *A. Kowarski* konstruierten Ureometer ausgeführt. Er besteht aus einem U förmigen Glasrohr, das durch zwei Hähne in drei Abschnitte geteilt werden kann*) (Fig. 26).

Erforderliche Reagenzien

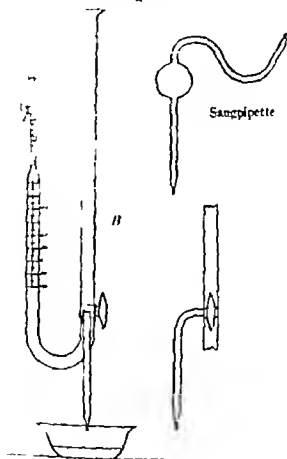
1 Gesättigte Kochsalzkalliumsulfatlösung (150 g Kaliumsulfat + 350 g Kochsalz werden mit 1 l Wasser bis zum Sieden erhitzt, abgekühlt und filtriert)

2 30%ige Natriumhydratlösung (aus mit Alkohol gereinigtem Na OH)

*) Zu beziehen bei Lutz Bergmann, Berlin.

7 10
 1 10², In 1000 g 10 g
 Ausf ng. Man verdünnt den Harn zu
 100-fach h dem spezifischen Gewicht mit dest

Fig. 26.



lichen Wasser (bis 1010 zweifach über 1010 ver-
 milt mit einer Pipette genau 2,5 cm³ ab bringt sie
 Reagenzglas, mit einer anderen Pipette werden 2,5 c
 Trichloressigsäure abgemessen dem Harn hinzugefügt
 durchgeschüttelt und hierauf durch ein kleines F
 (3 bis 4 cm Durchmesser) abfiltriert. Jetzt füllt ma

Oreometer mit der Kochsalzkaliumsulfatlösung Vorher muß der obere Hahn geöffnet werden und der untere Dreiweghahn so eingestellt daß der schwarze Punkt nach hinten gerichtet ist. Man gießt die Flüssigkeit in den rechten Schenkel bis sie den oberen Hahn überragt jetzt wird dieser Hahn geschlossen und der Dreiweghahn so eingestellt daß der schwarze Punkt nach unten kommt. Bei dieser Stellung der Hähne kommuniziert der linke Schenkel des Apparates mit dem Abflußrohr und es entsteht in diesem Teile ein negativer Druck. Jetzt entfernt man mit der dem Apparate beigegebenen Pipette die Flüssigkeit aus dem oberen Teil des linken Schenkels und gießt hierauf das klare Filtrat aus dem Reagensglas hinein. Man notiert den Stand der Flüssigkeit jetzt öffnet man vorsichtig den oberen Hahn und läßt genau 25 cm^3 des Filtrates in den unteren Teil der Rohre abfließen. Hierauf entfernt man mit der Pipette den Rest des Filtrates bringt in das Rohr destilliertes Wasser um den Rest des Filtrates abzuspuhlen und entfernt das Wasser mit der Pipette. Dies wird nochmals wiederholt. Hierauf bringt man in ein Reagensglas 10 cm^3 30%ige Natronlauge und setzt aus einer Tropfflasche 20 Tropfen Brom hinzu man gießt das Gemisch einige Male aus einem Reagensglas in das andere die so hergestellte Lösung von Natriumhypobromit gießt man jetzt in den oberen Teil des linken Schenkels öffnet den Hahn und läßt 5 bis 9 cm^3 Bromlauge (je nach dem Harnstoffgehalt) langsam hinabfließen das sich entwickelnde Gas verdrängt die Kochsalzkaliumsulfatlösung die durch den Abfluß abläuft. Man wartet zehn Minuten bis die Gasausscheidung vollendet ist und der ausgeschiedene Stickstoff die Zimmertemperatur angenommen hat. Jetzt dreht man den Dreiweghahn so um daß der schwarze Punkt wieder nach hinten kommt beide Schenkel kommunizieren dabei wieder da das Gas bei atmosphärischem Druck abgemessen werden soll dreht man den Dreiweghahn langsam in der Richtung bei der der schwarze Punkt nach oben kommt dabei fließt die Kaliumsulfatlösung aus dem rechten Schenkel langsam

nach außen ab man stellt das Niveau der Flüssigkeit auf dieselbe Höhe wie in dem linken Schenkel ein. Der Harnstoffgehalt wird folgenderweise berechnet. Man notiert genau die ausgeschiedene Gasmenge. Hierauf wird in der Tabelle die Zahl aufgesucht die der Temperatur und dem Barometerstand des Versuches entspricht. Mit dieser Zahl wird die gefundene Zahl multipliziert. Man erhält die Harnstoffmenge im Liter des verdünnten Harnes. Diese Zahl muß noch mit 2 bzw. 4 multipliziert werden.

Beispiel Bei einer Temperatur von 20°C und Barometerstand von 760 sind 35 cm^3 abgelesen. Bei einer vierfachen Verdünnung des Harnes wird der Harnstoffgehalt $1.96 \times 35 \times 4 = 27.44\%$ betragen.

Tabelle zur Harnstoffbestimmung (nach Kowarski)

1 cm^3 Stickstoff entspricht Gramm Harnstoff im Liter
Temperatur in Celsiusgraden

Barometerstand	10°	12°	14°	16°	18°	20°	22°	24°	25°
710	1.91	1.90	1.88	1.86	1.81	1.83	1.81	1.80	1.76
720	1.94	1.92	1.91	1.89	1.87	1.85	1.84	1.82	1.80
725	1.95	1.93	1.92	1.90	1.89	1.87	1.85	1.83	1.82
730	1.97	1.94	1.93	1.91	1.90	1.88	1.87	1.86	1.83
735	1.98	1.96	1.94	1.96	1.91	1.89	1.88	1.86	1.84
740	1.99	1.97	1.96	1.94	1.92	1.90	1.89	1.87	1.86
745	2.01	1.99	1.98	1.96	1.91	1.92	1.91	1.89	1.87
750	2.02	2.00	1.99	1.97	1.95	1.93	1.92	1.90	1.88
755	2.04	2.02	2.00	1.98	1.96	1.93	1.93	1.92	1.90
760	2.05	2.03	2.01	2.00	1.98	1.96	1.95	1.93	1.91
765	2.06	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.96	1.94	1.92
770	2.08	2.06	2.01	2.02	2.00	1.96	1.97	1.93	1.93

Nachdem der Versuch beendet ist wird der Inhalt des linken Schenkels entfernt indem man den oberen Hahn öffnet und den Dreiweghahn mit dem schwarzen Punkt nach unten einstellt sobald die Flüssigkeit entfernt ist spült man einige Male mit Wasser und zum Schluß mit etwas Kochsalz

kaliumsulfatlösung nach. Die in dem rechten Schenkel gebliebene Flüssigkeit kann für den nächsten Versuch verwandt werden. Es empfiehlt sich nach der Untersuchung den Apparat zu entleeren, das geschieht am einfachsten durch Umklippen bei offenen Hähnen. Von Zeit zu Zeit sollen die Hähne eingefettet werden.

Der gesunde Mensch scheidet bei gemischter Kost durchschnittlich 20 bis 35 g Harnstoff in 24 Stunden aus.

Bei Krankheiten kann die Harnstoffmenge vermehrt oder vermindert sein. Sie ist vermehrt bei Diabetes mellitus. Hier kann die Tagesmenge bis zur vier- bis fönffachen der normalen steigen. Sie kann vermehrt sein bei denjenigen akuten Infektionskrankheiten, bei welchen ein starker Zerfall von Organeweiß stattfindet.

Sie ist vermindert bis zum Fehlen bei akuter gelber Leberatrophie, bei Phosphorvergiftungen. Bei Nierenkrankheiten kann der Harnstoffgehalt des Harnes vermindert sein infolge Retention.

Das Verhältnis des Harnstickstoffes zur Gesamtstickstoffmenge (*Rabins Koeffizient*) beträgt 85/100. (Den Stickstoffgehalt des Harnstoffes erhält man durch Multiplikation der Harnstoffzahl mit $\frac{1}{13}$.)

Die Brommethode ist für praktisch-klinische Zwecke sehr gut geeignet, da sie bei genügender Genauigkeit schnell und einfach ausführbar ist.

Harnsäurebestimmung

a) Nach Hopkins Folie

Prinzip. Die Harnsäure wird als Ammonurat ausgefällt und mit einer Kalpermanganatlösung titriert.

Notwendige Reagenzien

1 Uranammonsulfatlösung 500 g Ammonsulfat werden in ungefähr 600 cm^3 Wasser gelöst und in einen Meßkolben von 1 l eingefüllt. Hierzu wird eine Lösung von 5 g Uranacetat in zirka 100 cm^3 Wasser und 6 cm^3 konzentrierte Essigsäure zugesetzt und die Mischung bis zu 1 l mit Wasser ergänzt. 2 konzentrierte Schwefelsäure 3. 25% Ammoniak 4. $\frac{1}{100}$ n Kaliumpermanganatlösung 5. 10%ige Ammonsulfatlösung

Ausführung. 8.0 cm^3 Harn vermischt man im Reagensglas mit 2.0 cm^3 des Uranreagens und läßt stehen bis der Niederschlag sich abgesetzt hat. Hierauf filtriert man. Von der klaren Flüssigkeit muß man genau 7.5 cm^3

(entsprechend 60 cm^3 Harn) nb bringt die Flüssigkeit in ein Zentrifugenglas setzt 10 bis 15 Tropfen Ammoniak hinzu verschließt durch einen Stopfen und läßt über Nacht stehen. Das abgesetzte Ammonurat wird alsdann scharf abzentrifugiert die klare Flüssigkeit abgegossen durch 6 bis 8 cm^3 der Ammonsulfatlösung ersetzt und nochmals zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird wiederum abgegossen. Man setzt jetzt etwa 3 bis 4 cm^3 Wasser und 1 cm^3 Schwefelsäure hinzu ruht mit einem Glasstab gut um und titriert sofort die heiße Flüssigkeit mit der $\frac{1}{10}$ n Permanganatlösung bis zur völligen Oxydation der Harnsäure was daran zu erkennen ist daß eine Rosafärbung der Flüssigkeit entsteht die sich zehn Sekunden hält.

Multipliziert man die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Permanganat mit 15 so erhält man die Anzahl Milligramme Harnsäure in der angewandten Harnmenge (6 cm^3)

Die Methode gibt ziemlich genaue und für die ärztliche Praxis brauchbare Resultate

b) Die kolorimetrische Mikromethode nach *Kowarski* (Prinzip *Morris* und *MacLeod*) (Reagenzien und Ausführung vgl Kapitel IV)

Der Harn wird auf das 200fache mit destilliertem Wasser verdünnt Von dieser Verdünnung bringt man 5 cm^3 in ein Zentrifugenglas setzt 0.1 cm^3 Zinkchloridlösung und 0.2 cm^3 SodaaLösung hinzu ruht um und zentrifugiert ab Weiter wird genau so verfahren wie bei der Harnsäurebestimmung im Blute Bei der Berechnung wird als Grundzahl nicht 4 mg sondern 40 mg genommen da von dem Harn für die Bestimmung eine zehnmal kleinere Menge genommen wurde als für die Blutuntersuchung Von hochgestellten Harnen (spez Gew über 1030) nimmt man anstatt 50 cm^3 2.5 cm^3 und setzt 2.5 cm^3 dest Wasser zu. Bei der Berechnung wird dann als Grundzahl 80 mg genommen

Die Harnsaureausscheidung im Harn ist beim gesunden Menschen in hohem Maße von der Art der Nahrung abhängig. Bei parafreier Kost wird nur etwa 0·3 bis 0·4 g in 24 Stunden ausgeschieden (endogene Harnsaure). Bei gemischter Kost steigt diese Menge bis 0·5 bis 0·7 g und bei sehr reichlicher Fleischnahrung sogar bis 1 bis 1·4 g.

Das Verhältnis des Harnstoffes zur Harnsaure beträgt nach Salterwski 1:40 das Verhältnis zur Phosphorsäure 0·3 0·25 (Zerners Koeffizient).

Die Harnsaure ist vermehrt bei Pneumonie und Leukämie. Bei Gicht ist die Harnsaure nur während des Anfalles und einige Tage nach dem Anfall vermehrt. In den Intervallen ist die Ausscheidung meist vermindert. Eine einmalige Bestimmung der Harnsaure im Harn kann daher keinesfalls die Diagnose der Gicht stützen. Zweckmäßiger läßt sich Gicht mittels einer Harnsaurebestimmung des Blutes feststellen.

Bestimmung der Chloride.

Nach Mohr

Prinzip. Versetzt man eine Chlornatriumlösung mit etwas Kaliumchromat, dann mit Silberlösung, so fällt nur Chlorn Silber aus, erst wenn sämtliches Chlor an Silber gebunden ist, bildet sich bei weiterem Zusatz der Silberlösung Silberbromat, welches dem Niederschlag eine Orangefärbung erteilt.

Erforderliche Lösungen 1. Silberlösung. Man erhält sie durch Auflösung von 29·012 g reinem Argent nitric. in 1 l destillierten Wassers. 2. 10%ige Kaliumchromatlösung.

Ausführung 1·0 cm³ Harn verdünnt man in einem kleinen Kolben oder Becherglas mit 10 cm³ destillierten Wassers und setzt ein bis zwei Tropfen Kaliumchromatlösung hinzu. Man läßt aus einer Mikrobürette Silberlösung einfließen, bis beim Umrühren die rötliche Färbung nicht mehr wie anfangs verschwindet. 1 cm³ der Silberlösung entspricht 0·01 Chlornatrium.

Für klinisch praktische Zwecke gibt die Methode genügend gute Resultate. Genauere Resultate erhält man wenn der Harn zunächst verascht wird und die Chlorbestimmung nach derselben Methode mit der Asche ausgeführt wird. Man kann die Titration auch mit einer 0·1 n Silberlösung ausführen. 1 cm³ dieser Lösung entspricht 0·00585 Kochsalz. Die Berechnung geschieht so, daß die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Silberlösung mit 1·0 bzw. 0·585 multipliziert wird. Man erhält den Prozentgehalt an Kochsalz.

Nach *Volhard* (Modifikation von *Arnold*)

Erforderliche Lösungen. 1 0·1-n AgNO_3 (16·894 g im Liter)

2 0·1 n-Rhodanammoniumlösung (circa 8·0 g im Liter)

3 kalt gesättigte Lösung von Eisenammoniakalaun,

4 konzentrierte Salpetersäure (chlorfrei)

5 konzentrierte Kaliumpermanganatlösung

Ausführung 10·0 cm^3 Urin werden in ein 100 cm^3 Meßkölbchen gebracht mit 4 bis 5 cm^3 konzentrierter Salpetersäure 2 cm^3 Eisenammoniakalaun und drei bis vier Tropfen Permanganatlösung versetzt und umgeschüttelt der Harn nimmt dabei eine hellgelbe Farbe an. Ist es nicht der Fall so wird solange tropfenweise Permanganat zugeetzt bis die hellgelbe Farbe auftritt Jetzt läßt man aus einer Burette so viel 0·1 n Silberlösung zufließen bis die zugesetzte Flüssigkeit keine Niederschlagsbildung mehr hervorruft (Überschuß) Man liest den Stand der Burette ab füllt jetzt das Meßkölbchen bis zur Marke mit destilliertem Wasser schüttelt gut durch und filtriert durch ein trockenes Filter 50 cm^3 des Filtrates bringt man in ein Becherglas und titriert mit 0·1 n Rhodanammoniumlösung bis zur Rotfärbung der Flüssigkeit

Berechnung Die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Rhodanammoniumlösung multipliziert man mit 2 und zieht die erhaltene Zahl von der Zahl der zugesetzten Kubikzentimeter Silberlösung ab Den Rest multipliziert man mit 0·00585 und erhält den Gehalt an NaCl in 10 cm^3 Harn

Diese Methode ist genauer als die Methode von *Mokr* Für klinische Zwecke kann jedoch auch die *Mokrsche* Methode empfohlen werden

Der normale Kochsalzgehalt des Harnes schwankt zwischen 10 und 15 g in 24 Stunden. Er ist vermindert im Hunger bei Diarrhöen, bei Bildung kochsalzreicher Exsudate und Transsudate, bei bestimmten Formen von Nephritis und bei fieberhaften Erkrankungen, besonders stark bei Pneumonie bei letzterer kann es bis zum vollständigen Verschwinden der Chloride kommen Diese Tatsache ist diagnostisch wichtig besonders bei der Feststellung einer zentralen Pneumonie. Nach der Krise steigt der Kochsalzgehalt ziemlich rapid, auch dann wenn die Nahrung ebenso knapp bleibt wie während des Fiebers.

Bestimmung der Phosphate.

Maßanalytische Methode.

Prinzip: Bringt man Phosphate in heißer essigsaurer Lösung mit einer Lösung von Urannitrat zusammen, so wird die Phosphorsäure vollständig als Uranphosphat ausgeschieden.

Erforderliche Lösungen. 1 Essigsäure Natriumacetatlösung 100 g essigsaures Natron werden in 800 cm³ Wasser gelöst, 100 cm³ 30%ige Essigsäure hinzugesetzt und zum Liter aufgefüllt.

2 Uranlösung Diese Lösung enthält 83,461 g Urannitrat oder 29,969 g Uranacetat in 1 l Wasser und wird mittels einer genau hergestellten Natriumphosphatlösung die 0,1 P₂O₅ in 50 cm³ enthält eingestellt. 1 cm³ dieser Lösung entspricht 0,005 g P₂O₅.

3 Eine 10%ige Blutlaugensalzlösung (Ferrocyankali) oder Cochenilletinktur

Ausführung Man bringt 50 cm³ Harn in einen Erlenmeyerkolben gibt 5 cm³ der essigsauren Natriumacetatlösung hinzu und erhitzt zum Sieden. Man läßt jetzt von der Uranlösung so lange zufließen, bis das Entstehen des Niederschlages noch deutlich sichtbar ist, dann prüft man nach Zusatz jedes 0,5 cm³ einen Tropfen der Flüssigkeit mit Ferrocyankalium um zu bestimmen, ob die Endreaktion eingetreten ist. Man bringt zu diesem Zwecke auf eine Porzellanplatte eine Reihe Tropfen der Ferrocyankalilösung und läßt zu diesen Tropfen einen Tropfen der mit einem Glasstabe entnommenen Flüssigkeit zufließen. Entsteht an der Berührungsstelle beider Tropfen eine rötlichbraune Färbung, so ist die Endreaktion eingetreten (Ferrocyankalium bildet mit Urannitrat oder Uranacetat Uranferrocyanid, das sich als rostbrauner Niederschlag ausscheidet). Multipliziert man die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Uranlösung mit 0,005, so erhält man die Menge P₂O₅ in 50 cm³ Harn. Anstatt Ferrocyankali kann man als Indikator Cochenilletinktur anwenden, man setzt der heißen Flüssigkeit 1 bis 2 cm³ der Tinktur zu und titriert mit der Uranlösung bis zur grasgrünen Färbung der Flüssigkeit.

Der Harn muß eiweißfrei sein. Die Methode gibt gute Resultate.

Die durchschnittliche Menge der in Form von Phosphaten mit dem Harn ausgeschiedenen Phosphorsäure beträgt 2,5 bis 3,0 g in 24 Stunden.

(mit Schwankungen von 0·86 bis 3·35); davon sind zwei Drittel an Alkalien, ein Drittel an Erdalkalien gebunden. Die Erdphosphate bestehen zu einem Drittel aus Calciumphosphat, zu zwei Dritteln aus Magnesiumphosphat. Die Phosphorsäure stammt zum größten Teil aus der Nahrung (Fleisch, Zerealien, Leguminosen) und nur zum kleineren Teile aus dem Zellerfall des Körpers (aus Nucleinen, Lecithin)

Man bezeichnet häufig als Phosphaturie die Ausscheidung der Erdphosphate aus der Lösung infolge der Veränderung der Reaktion des Harnes (Erdphosphate sind im alkalischen Harn unlöslich). Diese Bezeichnung ist nur dann richtig, wenn die Ausscheidung eines alkalischen Harnes unter solchen Verhältnissen geschieht, unter denen ein normaler saurer Harn ausgeschieden wird, also bei fleischreicher Kost. Von einer echten Phosphaturie spricht man dann, wenn die Menge der Phosphate bei gemischter Kost größer ist als 3·3 bis 4 g in der Tagesmenge. Die echte Phosphaturie zeigt sich am häufigsten bei nervös stigmatisierten Individuen

Als Kalkaturie wird die vermehrte Ausscheidung von Kalksalzen bezeichnet. Die Menge der Phosphorsäure kann dabei normal bleiben. Die Menge der Phosphate ist vermindert in den meisten Fällen von akuten Infektionskrankheiten, bei Nierenkrankheiten, Gicht, Rheumatismus, bei gelber Lebertrophie kann sie sogar verschwinden. Sie ist vermehrt bei Diabetes mellitus, bei Neurasthenie, Meningitis, intensiver geistiger Arbeit.

Das Verhältnis der Phosphorsäure zum Stickstoff (Zulass. Koeffizient) beträgt etwa 0·16. Dieser Koeffizient steigt bei echter Phosphaturie

Bestimmung der Sulfate.

(Mikromethode nach *Pincussen*)

Die Schwefelsäure kommt im Harn in zwei verschiedenen Formen vor, als präformierte oder freie (= schwefelsäure Salze) und als gebundene oder Atherschwefelsäure (= Verbindungen mit aromatischen Alkoholen).

Prinzip Die Sulfate werden mit Benzidinlösung ausgefällt und die Schwefelsäure durch Titration mit Natronlauge ermittelt.

Reagenzien 1 Benzidinreagens 2 g Benzidin werden mit zirka 5 cm^3 Wasser zu einem Brei verrieben und unter reichlichem Nachspülen mit Wasser in einem Meßkolben von 1000 cm^3 überführt. Es werden 25 cm^3 konzentrierte HCl (1·19) zugefügt, gut geschüttelt und zur Marke aufgefüllt. Lösung durch leichtes Erwärmen beschleunigen. 3 Benzidinsulfatlösung Ungefähr 1 g Benzidinsulfat wird in 1 l Wasser aufgeschwemmt, gut geschüttelt und vom Ungelosten abfiltriert. Das Filtrat wird mit der gleichen Menge Wasser verdünnt. 3 Konzentrierte HCl

(spezifisches Gewicht 1.19) 4 Na OH 33%ig 5 HCl verdünnt (1 Teil konzentrierte + 4 Teile Wasser) 6 Na OH n/50 7 α Dinitrophenol 0.05%ige wässrige Lösung 8 Phenolphthalein 1%ige alkoholische Lösung

a) Bestimmung der freien (präformierten) Schwefelsäure. In ein Zentrifugenglas von mindestens 15 cm³ Fassungsraum werden 2 cm³ Harn hereinpipettiert und 10 cm³ Benzidinreagens (1) unter Umrühren zugefügt. Es wird 0.5 cm³ Dinitrophenollösung (7) zugegeben und nun so lange vorsichtig tropfenweise verdünnte HCl (5) zugefügt, bis die gelbe Farbe des Dinitrophenols gerade verschwunden ist und dann noch 0.5 cm³. Nach zehn Minuten langem Stehen wird der gebildete Niederschlag abzentrifugiert, was in wenigen Minuten erreicht ist. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen an ihrer Stelle Benzidinsulfatlösung (2) zugegeben, gemischt, wieder zentrifugiert, darnach wieder abgegossen und das Verfahren nochmals wiederholt. Die letzte Waschflüssigkeit darf Knäupapier nicht bläuen, sonst muß die Waschung mit Benzidinsulfat wiederholt werden. Man gießt nunmehr die Flüssigkeit ab und fügt zum Rückstand ungefähr 5 cm³ destilliertes Wasser zu. In einem Wasserbad erhitzt man das Zentrifugenglas mit Inhalt zum Kochen, fügt fünf Tropfen Phenolphthaleinlösung (8) hinzu und titriert heiß mit n/50 Na OH aus einer Mikrobürette. 1 cm³ n/50 Na OH entspricht 0.98 mg H₂SO₄.

b) Bestimmung der gesamten Schwefelsäure (freie + gebundene). Um die gebundene Schwefelsäure aufzuspalten, werden 25 cm³ Harn mit 10 cm³ konzentrierter HCl (3) in einem Erlenmeyerkolbchen 15 Minuten zum gelinden Sieden erhitzt. Man läßt etwas abkühlen, gibt 1 g Bismutkbl. dazu und erhitzt nochmals drei Minuten zum Sieden (Vorsicht: schäumt leicht über). Man überführt die durch das Erhitzen stark eingedunstete Mischung quantitativ in ein Meßkolbchen von 25 cm³ und spült das Kolbchen in welchem man erhitzt hatte mit

etwas Wasser aus so daß man gerade bis zur Marke 25 auffüllt. Es wird nunmehr gut durchgemischt und durch ein Faltenfilter filtriert. Von dem klaren Filtrat werden 2 cm^3 wie oben beschrieben in ein Zentrifugenglas überführt. 10 cm^3 Benzidinreagens (1) unter Mischen zugefügt und 0.5 cm^3 Dinitrophenol dazugegeben. Die stark saure Lösung wird nun mit konzentrierter Natronlauge (4) tropfenweise so lange versetzt bis Auftreten einer Gelbfärbung. Abstumpfung der Säure anzeigt. Nunmehr wird wieder tropfenweise verdünnte HCl (5) gerade bis zum Verschwinden der Gelbfärbung zugefügt und weiter genau so verfahren wie es bei der Bestimmung der freien Schwefelsäure beschrieben wurde. Die Titration mit $n/50\text{ NaOH}$ ergibt die Summe der freien und der gebundenen Schwefelsäure. Zieht man von dieser Summe die Menge der freien Schwefelsäure ab so erhält man die Zahl für die gebundene Schwefelsäure.

Die Tagesmenge der Gesamtschwefelsäure beträgt beim gesunden Menschen 1.5 bis 3.0 g SO_2 und ist abhängig von der Größe des Eiweißzerfalles. Das Verhältnis der gepaarten Sulfate zu den präformierten beträgt in der Norm ungefähr 1:10. Bei Fäulnisprozessen im Körper hauptsächlich bei Darmsäure, ist die Menge der gepaarten Sulfate vermehrt.

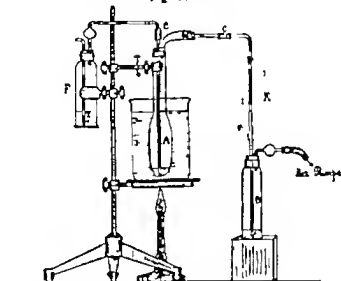
Bestimmung des Ammoniak.

Mikromethode. Zur Ausführung dieser Bestimmung dient der auf Seite 227 abgebildete Apparat. Er besteht aus einem 75 bis 100 cm^3 fassenden langhalsigen Kolben *A* aus Jenaer Glas. Der doppelt durchbohrte Kork der diesen Kolben schließt enthält ein gerades bis zum Boden des Gefäßes reichendes Röhrchen und ein gebogenes weites Rohr. Mittels der Gummischläuche *e* und *c* kann das Kölbchen einerseits mit der Waschflasche *F* andererseits mit der Vorlage *B* verbunden werden. Die Konstruktion dieser Gefäße ist auf der Zeichnung deutlich zu sehen.

Zur Ausführung der Bestimmung löst man die Verbindungen *e* und *c* bringt in die Vorlage *B* $5\text{ cm}^3\text{ } \frac{1}{10} n$ Schwefelsäure und ebensoviel destilliertes Wasser. In den Kolben *A* kommt 1 cm^3 Harn (genau abmessen) etwa 5 cm^3

destilliertes Wasser und einige Tropfen Vaselineöl (*Paraffinum liquidum*) In die Waschflasche *F* gießt man 20 bis 30 cm^3 25%ige Schwefelsäure (diese Waschflasche dient zur Absorption des Ammoniaks der Luft) Hiernauf wird der Kork des Kolbens *A* geschlossen und die Verbindung in *c* wieder hergestellt. Der Kolben *A* wird in ein Becherglas mit bis auf 50° C erwärmtem Wasser eingetaucht Jetzt wird die Verbindung mit einer Wasserstrahlpumpe hergestellt und ein

Fig 27



leichter Luftstrom durchgeleitet. Hiernauf läßt man durch einen passenden Trichter durch die noch offene Verbindung bei *e* 1 cm^3 gesättigte Natriumcarbonatlösung in den Kolben *A* einfließen. Man spült mit einigen Tropfen Wasser nach und schließt die Verbindung bei *e*.

Durch das Alkali freigemachtes Ammoniak wird durch den Luftstrom mitgerissen und durch die Schwefelsäure in der Vorlage gebunden. Diese Destillation wird 15 Minuten fortgesetzt. Im Laufe dieser Zeit muß die Temperatur des Wassers im Becherglase mittels einer kleinen Bunsenflamme auf 50° C erhalten werden.

Nach 15 Minuten wird die Verbindung bei c und mit der Wasserstrahlpumpe gelöst und die Flüssigkeit in der Vorlage mit einer $\frac{1}{100}$ n Natriumhydratlösung aus einer in 0.05 cm^3 geteilten Burette titriert. Als Indikator wird Methylrot benutzt (0.1 Methylrot wird in 300 cm^3 90%igem Alkohol gelöst und bis 500 cm^3 destilliertes Wasser zu gesetzt) Man gibt nur ein bis zwei Tropfen Methylrot zu. Der Umschlag von Rot in Gelb ist scharf. Die Methode ist genau.

Berechnung Von der vorgelegten Menge Schwefelsäure wird die bei der Titration verbrauchte abgezogen. Der Rest mit 0.34 multipliziert ergibt die Ammoniakmenge in Milligrammen die in 10 cm^3 Harn enthalten sind.

Beispiel Vorgelegt 5 cm^3 verbraucht bei der Titration $38.5 - 38 = 1.212 \times 0.34 = 0.408 \text{ mg}$ Ammoniak in 1 cm^3 Harn also $0.408 \times 100 = 40.8 \text{ mg-Prozent}$.

Für die Ammoniakbestimmung sind nur frische Harnen geeignet. Zur Konservierung setzt man bis zur deutlich sauren Reaktion Schwefelsäure zu.

Der Ammoniakgehalt des normalen Harnes beträgt 0.2 bis 1.2 g in der 24stündigen Harnmenge im Durchschnitt 0.7 g . Die Ammoniakanscheidung ist vermehrt bei Leberkrankheiten, akuten heberhaften Affektionen, Pneumonie, Typhus und diabetischer Acidose. Bei letzterer läßt sich aus dem Ammoniakgehalt des Harnes annähernd der Grad der Acidose feststellen, da der Ammoniak zur Neutralisation der Säuren in Anspruch genommen wird soweit die fixen Alkalien des Harnes dazu nicht ausreichen. Nach *Meyer-Lewy* läßt sich der Grad der Acidose schätzungsweise berechnen, wenn man von der Tagesmenge des Ammoniaks 1 bis 2 g abzieht. Der Rest entspricht der Menge die zur Neutralisation der Säuren verbraucht ist.

Bestimmung des Azetons, der Azetessigsäure und β -Oxybuttersäure.

Bestimmung des Azetons und der Azetessigsäure (nach Pincussen)

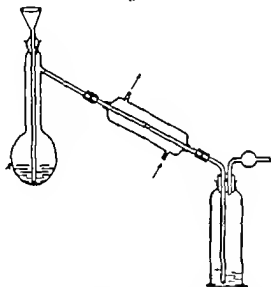
Prinzip Präformiertes Azeton wird in der Kälte Azeton aus Azetessigsäure in der Wärme mit Hilfe eines Luftstromes ausgetrieben und mittels Natronlauge und Jodlösung in Jodoform umgewandelt. Nach der Menge

des zur Jodoformbildung verbrauchten Jods wird die Azetonmenge bestimmt

Reagentien 1 Oxalsäurelösung 1%ig 2 Essigsäure 10%ig 3 Natronlauge 15%ig 4 konzentrierte Salzsäure 5 0·01 n Jodlösung 6 0·01 n Thiosulfatlösung 7 Stärkelösung 1%ig

Der zur Destillation dienende Apparat besteht aus (Fig 28) einem 125 cm³ fassenden Kölbchen mit langem

Fig 28



Hals der einen eingeschliffenen Stopfen mit einem bis fast zum Boden reichenden oben zu einem Trichter erweiterten Rohr trägt. Als Vorlage wird eine sogenannte Gaswaschflasche mit eingeschliffenen Stopfen angewandt / zwischen Kölbchen und Vorlage wird Glas an Glas ein Kühler eingeschaltet

Man bringt in das Kölbchen (A) 2 cm³ Harn 25 cm³ dest. Wasser 2 cm³ Oxalsäurelösung und einige Tropfen Vaselinöl in die Vorlage 10 cm³ 0·01 n Jodlösung 5 cm³ Natronlauge und etwa 5 cm³ dest Wasser Ohne zu er

wärmen saugt man während 25 Minuten einen langsamen Luftstrom durch das System. Die Vorlage wird dann abgenommen und durch eine neue in gleicher Weise beschickte ersetzt. In das Kölbchen gibt man jetzt durch den Trichter 1 cm^3 Essigsäure und saugt 15 Minuten lang unter Erhitzen des Kölbchens auf freier Flamme weiter Luft durch wobei verdampftes Wasser durch den Trichter ersetzt wird.

Die Vorlagen werden nach ihrer Abnahme weiter verarbeitet man gibt so viel konzentrierte Salzsäure hinzu bis eine braune Färbung auftritt es scheidet sich dabei das überschüssige zur Bildung von Jodoform nicht verbrauchte Jod aus. Tritt diese Braunfärbung nicht auf so war zu wenig Jodlösung vorgelegt und die Bestimmung ist mit einer größeren Menge Jodlösung zu wiederholen. Man titriert den Inhalt der Vorlage unter Zusatz von Stärkelösung (2–3 Tropfen) mit 0.01 n Thiosulfat bis die Blaufärbung gerade verschwunden ist.

Berechnung Die Differenz zwischen der vorgelegten Menge Jodlösung und der verbrauchten Menge Thiosulfatlösung multipliziert mit 0.0967 ergibt die Milligramme Azeton in 2 cm^3 Harn. In der ersten Vorlage wird das präformierte in der zweiten das Azeton aus der Azetessigsäure bestimmt. Will man die Gesamtmenge des Azetons bestimmen so verfährt man sofort wie zur Bestimmung des Azetons aus Azetessigsäure angegeben ist.

Beispiel Vorgelegt 10 cm^3 Jod zurück titriert 9.2 cm^3 Thiosulfat $10.0 - 9.2 = 0.8$ Menge des präformierten Azetons $0.8 \times 0.0967 = 0.0774 \text{ mg}$ in 2 cm^3 in 100 cm^3 $0.0774 \times 50 = 3.87 \text{ mg}$ Ebenso wird das Azeton aus Azetessigsäure aus dem Ergebnisse der Titration in der zweiten Vorlage berechnet.

Die Bestimmung der β Oxybuttersäure kann ebenfalls durch Oxydation zu Azeton geschehen. In ein 50 cm^3 fassendes Meßkölbchen bringt man 5 cm^3 Harn 5 cm^3 Bleiessig und 1 cm^3 konzentrierten Ammoniak füllt zur Marke mit dest. Wasser auf mischt filtriert und verwendet zur Bestimmung 20 cm^3 ($= 2 \text{ cm}^3$

Harn) des klaren Filtrats. Man bringt die Flüssigkeit in das Kölbchen A des Apparates setzt etwas Essigsäure zu und verfährt wie bei der Bestimmung des Azetons aus Azetessigsäure. Nachdem auf diese Weise das freie und das Azeton aus Azetessigsäure ausgetrieben sind läßt man abkühlen gibt durch den Trichter so viel Wasser zu das die Menge etwa 30 cm^3 beträgt und noch 1 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure. Jetzt schließt man eine neue Vorlage mit Jod und Natronlauge an (wie oben) erhitzt unter Luftdurchsaugung auf kleiner Flamme zum Sieden und setzt durch den Trichter in Zwischenräumen von 5 Minuten 4mal 5 cm^3 einer 2%igen Kaliumbichromatlösung zu. Nach 20 Minuten ist die Destillation beendet. Man läßt abkühlen setzt Salzsäure zu und titriert wie oben. Die Berechnung geschieht so daß man die Differenz zwischen Jod und Thiosulfat mit 0.159 multipliziert. Man erhält die Milligrammzahl für β -Oxybuttersäure in 2 cm^3 Harn.

Der normale Harn enthält nur minimale Spuren von Azeton, so daß die 24stündige Ausscheidung 0.01 g nicht übersteigt.

Der Azetongehalt des Harnes ist bedeutend vermehrt bei vorgeschrittenen und schweren Fällen von Diabetes, bei kachektischen und anämischen Zuständen, beim Hunger bei bestimmten Formen von Carcinomen, bei akuten und chronischen Verdauungsstörungen im Kindesalter. Bei diabetischem Koma kann die Menge des Azetons bis zu 50.0 g in der Tagesmenge steigen.

Untersuchung der Harnsteine und Harnkonkremente

Nach dem wesentlichen Bestandteile unterscheidet man

1. **Uratsteine** die aus freier Harnsäure saurem harnsaurem Natron oder (seltener) aus harnsaurem Ammoniak bestehen.

2. **Phosphatsteine** bestehen hauptsächlich aus phosphorsauren Salzen des Kalkes der Magnesia und kohlen saurem Kalk.

3. **Oxalatsteine** aus oxalsaurem Kalk.

4 Cystin und Xanthinsteine (sehr seltene Konkretionen)

5 Gemischte Steine bestehen aus Schichten verschiedener Zusammensetzung

Allgemeine Eigenschaften.

Farbe Uratsteine sind gelb bis dunkelbraunrot gefärbt Phosphatsteine von weißer grüner bis graugelblicher Farbe Oxalatsteine sind meist braunrot bis schwarz gefärbt es finden sich aber auch solche von weißer oder grauer Farbe (Kleinere Steine) Cystinsteine sind blaßgelb Xanthinsteine hellbraun.

Oberfläche Oxalatsteine haben meist eine raube, bucklige oder warzige Oberfläche (maulbeerartig) Uratsteine haben eine weniger raube Phosphatsteine meist eine sandige ziemlich glatte Oberfläche. Cystin und Xanthinsteine sind meist glatt

Konsistenz. Die weichsten sind die Cystin und Phosphatsteine. Letztere sind von einer mehr oder weniger erdigen kroidigen Beschaffenheit und ziemlich brüchig Cystinsteine sind wachsw weich Uratsteine sind viel härter die härtesten sind die Oxalatsteine.

Chemische Untersuchung

Für die Untersuchung wird der Stein mit einer Laubsäge in zwei gleiche Teile zersägt die Oberfläche des Querschnittes etwas abgeschliffen und mit Wasser abgespült. Es treten dann die Schichten aus welchen der Stein zusammengesetzt ist und der Kern deutlich hervor Zur chemischen Untersuchung schabt man von jeder Schicht und dem Kern mit dem Messer etwas ab und untersucht jede Schicht gesondert. Sind auf dem Querschnitte die Schichten und der Kern nicht deutlich so zerschlägt man den Stein und zerreibt einen Teil im Morser zu feinem Pulver

Eine kleine Probe des Pulvers erhitzt man auf einem Platinblech oder Platinspatel Diese vorläufige Probe bestimmt den weiteren Gang der chemischen Untersuchung.

da dabei das Vorwiegen organischer oder anorganischer Substanzen im zu prüfenden Stein festgestellt wird. Es können hierbei zwei Fälle vorkommen

1 Die Probe verbrennt fast ganz und es bleibt kein oder nur ein sehr geringer Rückstand d. h. der Stein besteht hauptsächlich aus organischen Substanzen. Solche Steine können aus Harnsäure harnsauren Salzen Xanthin oder Cystin bestehen. Urat- und Xanthinsteine verbrennen ohne Flamme mit einem Geruch nach Blausäure Cystinsteine mit bläulicher Flamme und Geruch nach schwefliger Säure.

Um mit Sicherheit festzustellen welche von den genannten organischen Substanzen die Hauptmasse des Steines bildet, dampft man eine zweite Probe in einer Porzellanschale mit einigen Tropfen Salpetersäure zur Trockne ein. Gibt der Rückstand mit einem Tropfen Ammoniak eine purpurrote und mit Natronlauge eine bläuliche Färbung (Murexidprobe) so handelt es sich um Harnsäure harnsaures Ammon oder andere Urate. Wenn die ursprüngliche Substanz mit Kalilauge Ammoniak entwickelt so besteht der Stein aus harnsaurem Ammon. Fällt die Probe auf Ammoniak negativ aus und verbrennt der Stein beim Glühen vollkommen so handelt es sich um reine Harnsäure. Andere harnsaure Salze hinterlassen beim Glühen einen geringen Rückstand.

Erhält man bei der Murexidprobe mit Ammoniak keine Färbung und mit Natronlauge eine schöne rote Farbe so besteht der Stein aus Xanthin Cystinsteine geben bei der Murexidprobe weder mit Ammoniak noch mit Natronlauge eine Färbung. Sie unterscheiden sich dadurch daß sie leicht in Ammoniak löslich sind wobei nach langsamem Verdunsten des Ammoniaks sich sehr charakteristische sechsseitige Tafeln abscheiden (Fig. 32). Durch Zusatz von Essigsäure bis zur sauren Reaktion kann die Ausscheidung der Kristalle beschleunigt werden.

2 Die Probe verbrennt gar nicht oder schwärzt sich nur und hinterläßt nach

dem Cluhen einen bedeutenden Rückstand. Der Stein kann in diesem Falle hauptsächlich aus Phosphaten, Carbonaten oder Oxalaten bestehen.

Man lost eine Probe in heißer verdünnter Salzsäure, wobei der größte Teil des Pulvers gelöst wird. Ungelöst bleibt nur die organische Grundsubstanz und die eventuell in geringer Menge vorhandene Harnsäure. Man läßt die Probe erkalten (zur Abscheidung der Harnsäure), filtriert oder zentrifugiert ab, verdünnt das Filtrat mit wenig Wasser und versetzt mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion. Entsteht bei Zusatz von Ammoniak ein Niederschlag, so kann derselbe aus

- a) Erdphosphaten (phosphorsaurer Kalk und Magnesia), Tripelphosphaten (phosphorsaure Ammoniakmagnesia) oder
- b) oxalsaurem Kalk bestehen.

Man trennt den Niederschlag von der Flüssigkeit (am besten durch Zentrifugieren) und löst ihn in Essigsäure. Tripelphosphate und Erdphosphate werden dabei gelöst, während oxalsaurer Kalk ungelöst bleibt und mikroskopisch nachgewiesen werden kann.

Mit der abfiltrierten bzw. abzentrifugierten essigsauren Lösung führt man folgende Proben aus. Man versetzt die Flüssigkeit mit Ammoniummolybdat und Salpetersäure und erwärmt auf 60°; entsteht ein gelber Niederschlag, so ist die Anwesenheit von Phosphorsäure bestätigt.

Entsteht bei Zusatz von Ammoniak zu der salzsauren Lösung des Steines kein Niederschlag, so handelt es sich um Calcium- oder Magnesiumcarbonat.

Eine Probe des Steines wird alsdann mit Salzsäure betupft; es muß dabei eine Gasentwicklung (Aufbrausen) durch Ausscheidung von Kohlensäure entstehen. Man versetzt jetzt eine Hälfte der ammoniakalischen Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon; bildet sich dabei ein Niederschlag von oxalsaurem Kalk, so ist Calciumcarbonat vorhanden. Zu der anderen Hälfte setzt man eine Natriumphosphat-Lösung zu; wenn dabei ein Niederschlag von Tripelphosphat entsteht, so ist Magnesiumcarbonat nachgewiesen.

Der in Salzsäure unlösliche Rest des Steines muß auf Harnsäure mittels der Murexidprobe geprüft werden

Mikroskopische Untersuchung des Harnsedimentes

Zur Gewinnung des Harnsedimentes für die mikroskopische Untersuchung wird der Harn abzentrifugiert

Vor der Entnahme des Untersuchungsmaterials läßt man den Harn 2 bis 3 Stunden stehen worauf der abgesetzte Bodensatz mit einer langen Pipette entnommen und in ein zugespitztes etwa 10 cm³ fassendes Zentrifugenglas gebracht wird. Man zentrifugiert 5 bis 10 Minuten

Die Flüssigkeit wird unter möglichst schnellem Umdrehen des Gläschens abgegossen. Allmähliches Ausgießen ist zu vermeiden weil sich dabei das Sediment wieder leicht mit der Flüssigkeit vermischt.

Von dem Sediment wird mit einer Pipette ein kleiner Tropfen entnommen auf einen Objektträger gebracht und ohne dabei einen besonderen Druck auszuüben mit einem Deckglas bedeckt. Die etwa unter dem Deckglas hervor dringende Flüssigkeit darf nicht durch Absaugen mittels Fließpapier entfernt werden weil dadurch leicht Formelemente aus dem Bereich des Deckglases fortgeschwemmt werden können. Die mikroskopische Untersuchung wird alsdann zunächst bei kleiner Vergrößerung (*Leit* Objektiv 3) und hierauf bei größerer (Objektiv 7) vorgenommen. Wie immer bei ungefärbten Objekten bedient man sich auch hier des Hohlspiegels und schaltet den *Abbeschen* Beleuchtungsapparat aus.

Sehr häufig bedarf es zur Identifizierung amorpher und kristallinischer Salze der Anwendung einer mikroskopischen Reaktion. Sie wird in der Weise ausgeführt daß man an den einen Rand des Deckglases einen Tropfen des betreffenden Reagens bringt und es durch ein Stückchen Fließpapier das man an die entgegengesetzte Kante des Deckglases anlegt ansaugt.

Steht eine Zentrifuge nicht zur Verfügung, so kann man das Sediment entweder durch Sedimentierung einer größeren Harnmenge im Splitzglaase oder durch Filtrieren gewinnen. In letzterem Falle sammelt sich der größte Teil des Sedimentes an der Spitze des Filters man wendet den Filter mit der Innenseite nach außen und drückt aus der Spitze einen Tropfen auf den Objektträger

Mikroskopische Untersuchung

Das Harnsediment setzt sich aus nicht organisierten und organisierten Bestandteilen zusammen

Die nicht organisierten Bestandteile umfassen die aus dem Harn ausfallenden Salze die entweder in amorpher oder kristallinischer Gestalt im Sediment erscheinen

Die Ausscheidung der gelösten Stoffe — die Sedimentbildung — ist in erster Linie vom kolloidalen Zustande des Harnes abhängig. Die Kristallisation aus der wässrigen übersättigten Lösung, wie sie der Harn darstellt tritt dann nicht ein, wenn fein verteilte Kolloide zugegen sind (Schutzkolloide). Sind dagegen die Harnkolloide in grob dispersen Zustände vorhanden, so tritt Salzausscheidung ein

Harnsäure (Tafel VIII Fig. 1) Die Harnsäurekristalle finden sich hauptsächlich im Niederschlag des sauren Harnes seltener im amphoteren Urin. Sie treten bald vereinzelt auf bald fallen sie in großer Menge aus und haften dann oft fest am Boden und den Wänden des Harngefäßes meist schon makroskopisch an ihrem kristallinischen Aussehen und ihrer gelben oder rotbraunen Farbe erkennbar

Auch im mikroskopischen Präparate erscheinen die Harnsäurekristalle fast stets braun oder gelb gefärbt nur selten sieht man sie farblos. In Form und Größe bieten sie ein recht vielgestaltiges Bild dar. Bald treten sie in Gestalt von Wetzsteinen auf bald in Form von Spindeln die sich aneinander lagernd und kreuzend Drusen und Rosetten darstellen bald bilden sie sechseckige Tafeln oder zeigen Tonnen oder Faßform. Daneben finden sich spieß- und nadelförmige Gebilde welche garbenbündelartig oder zu Büscheln angeordnet sind. Seltener sieht man Hantel- und Sanduhrenform. Alle diese mannigfachen Kristallformen welche nicht selten nebeneinander vorkommen lassen sich im wesentlichen auf eine gemeinsame Grundform

die rhombische Tafel zurückführen Runden sich zwei gegenüberliegende Winkel der Tafel ab so entwickelt sich die Wetzsteinform sind sie durch senkrechte Linien abgeschnitten erhält man die sechseckige Tafel durch spitzwinklige Ausziehung der Ecken entstehen die nadel förmigen bzw spießartigen Gebilde Überschiebung und Aneinanderlagerung von Kristallen führt zur Bildung der Tonnen und Faßform

Mikrochemische Reaktionen 1 Die Harnsäure ist in Salz- und Essigsäure unlöslich. 2 Läßt man unter dem Deckglas etwas Natrioalauge zufließen, so lösen sich die Harnsäurekristalle auf

Amorphe harnsaure Salze Urate Sie setzen sich aus harnsaurem Natrium Kalium Calcium und Magnesium zusammen und sind ein Sediment des sauren Harnes. Makroskopisch erscheinen sie als lehmfarbener gelber oder ziegelroter Niederschlag der sich aus konzentrierten sauren Harnen und beim Erkalten des Urins oft in großen Massen niederschlägt (Sedimentum lateritium) Seine Färbung verdankt dieses Sediment den Harnfarbstoffen (Urochrom Uroerythrin Urorosein) welche die Urate gleich der Harnsäure beim Ausfallen mitreißen

Unter dem Mikroskop zeigen sie sich als kleine amorphe bräunlichgelb gefärbte seltener farblose Körnchen die gewöhnlich in kleineren oder größeren nierenartigen Häufchen zusammenliegen und oft in so dichten Massen auftreten daß sie das ganze Gesichtsfeld voll kommen ausfüllen und alle anderen Formelemente verdecken Um diese sichtbar zu machen muß man dann die Urnte erst zur Auflösung bringen Dies geschieht am einfachsten indem man das Zentrifugierrohrchen welches das Sediment enthält mit warmer (50 bis 60° C) physiologischer Kochsalzlösung füllt die Urate unter Schütteln auflöst und sofort die sie beim Erkalten der Mischung wieder ausfallen können von neuem zentrifugiert Mitunter bilden die Urnte eigentümliche zylindrische Formen Uratzylinder die nicht mit granulierten Zylindern verwechselt werden dürfen nicht selten sieht man sie auf Epithelien und echten Zylindern aufgelagert

Mikrochemische Reaktionen

1 Die Urate lösen sich beim Erwärmen auf und scheiden sich beim Erkalten wieder aus

2 Sie lösen sich auf Zusatz von Salzsäure und Essigsäure auf aus der Lösung fallen nach einiger Zeit Harnsäurekristalle meist in Form rhombischer Tafeln aus.

Saures harnsaures Ammon (*Ammonium urat*) (Tafel VIII Fig 2) Das Ammoniumurat ist dasjenige harnsaure Salz welches im Sediment des alkalischen Harnes am häufigsten angetroffen wird. Im neutralen und sauren Urin begegnet man ihm ziemlich häufig bei Kindern besonders Neugeborenen und Säuglingen sehr viel seltener bei Erwachsenen. Es erscheint in Gestalt braun gelb gefärbter Kugeln welche einzeln paarweise oder auch zu größeren Haufen vereint liegen können. Diese Kugeln zeigen häufig stachelnähnliche Fortsätze welche je nach Größe und Anzahl den Kristallen ein mannigfaches Aussehen verleihen. So entstehen Kristalle von Stechapfel, Morgenstern, Milben und Rübenform. Allen diesen Bildungen gemeinsam ist die braungelbe Farbe. Nur selten bildet das harnsaure Ammon farblose Kristalle. Sie erscheinen dann als biskuitförmige Gebilde (*Dumb bells*) oder büschelförmig angeordnete Nadeln.

Mikrochemische Reaktionen: 1 Die Kristalle des harnsauren Ammons lösen sich beim Erwärmen auf und fallen beim Erkalten wieder aus.

2 Auf Zusatz von Essigsäure gehen sie in Lösung und an ihrer Stelle bilden sich Harnsäurekristalle.

3 Kalilauge löst sie unter Gasentwicklung (*Ammoniak*) auf

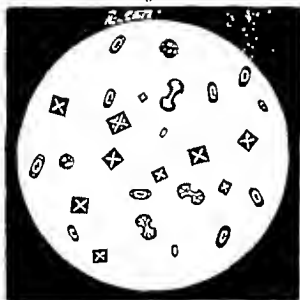
Calcium oxalat oxalsaurer Kalk (Fig 29) Die Kristalle des oxalsäuren Kalkes finden sich im Sediment des sauren amphoteren und alkalischen Harnes. Sie bilden wenn sie in großen Mengen ausfallen einen grauweißen flockigen Bodensatz.

Die Kristalle des oxalsäuren Kalkes erscheinen gewöhnlich als farblose stark lichtbrechende Oktaeder sogenannte Briefkuvertformen von verschiedener Größe. Man begegnet besonders wenn Calciumoxalat in großer Menge ausgefallen ist ganz kleinen Kristallen deren Briefkuvertform oft nur bei scharfer Einstellung des Mikroskops

erkennbar ist. Selbst die kleinsten punktförmigen Kristalle fallen jedoch durch ihr charakteristisches glänzendes Aussehen auf, das mitunter an kleine Fetttropfen erinnert, von welchen sie sich durch die mikrochemische Reaktion (bei Zusatz von Äther löst Fett sich auf) unterscheiden.

Seltener als in Oktaedern kristallisiert der oxalsaure Kalk in Sanduhr-, Hantel- oder Biskuitform (sogenannte

Fig. 20



Calciumoxalat

Dumb bells). Das starke Lichtbrechungsvermögen dieser Gebilde, deren Oberfläche leicht gestreift erscheint, das gleichzeitige Vorhandensein von Briefknvertformen, schließlich ihr Verhalten chemischen Reagenzien gegenüber, lassen auch sie immer leicht als Kristalle des oxalsauren Kalkes erkennen. Im ikterischen Harn sind sie ebenso wie die Formelemente (Epithelien, Zylinder usw.) oft gelb gefärbt.

Die Calciumoxalatkristalle sind chemisch durch ihre Unlöslichkeit beim Erwärmen und in Essigsäure und ihre leichte Löslichkeit in Salzsäure charakterisiert.

Neutraler phosphorsaurer Kalk (Fig 30)
Er findet sich sowohl im Sediment des schwach sauren wie amphoteren und schwach alkalischen Harnes

Der neutrale phosphorsaure Kalk kristallisiert meist zu langen glänzenden prismatischen keilförmigen Gebilden die einzeln liegend angetroffen werden meist aber

Fig 30



a Kristalle des neutralen phosphorsauren Kalkes, b amorphe Phosphate und Carbonate

zu mehr oder weniger dichten Bündeln oder Rosetten angeordnet sind das keilförmig zugespitzte Ende ist dann gewöhnlich dem Zentrum zugekehrt. Daneben bildet das Calciumphosphat auch Schollen in seltenen Fällen büschelförmig angeordnete Nadeln die in ihrem Aussehen den Tyrosinkristallen gleichen jedoch durch die mikroskopische Reaktion von ihnen zu unterscheiden sind. Die Kristalle des neutralen phosphorsauren Kalkes lösen sich bei der Behandlung mit Essigsäure vollkommen auf.

Calciumsulfit Gips Die Kristalle des schwefelsauren Kalkes sind äußerst selten im Sediment des Urins nachweisbar sie finden sich nur in stark sauren Harnen in denen sie dann oft einen weißen dichten Niederschlag bilden

Mikroskopisch erscheinen sie in Form farbloser langer Nadeln oder als schmale Prismen mit schrägen Endflächen meist in Rosettenform angeordnet Vor einer Verwechslung mit den sehr ähnlichen Kristallen des neutralen phosphorsauren Kalkes schützt die mikrochemische Reaktion. Die Gipskristalle sind in Essigsäure unlöslich in Salzsäure schwer löslich

Calciumcarbonat (kohlensaurer Kalk) Der kohlensaure Kalk findet sich am häufigsten im Bodensatz des alkalischen sehr viel seltener im Niederschlag des amphoteren und schwach sauren Harnes. Er kommt gewöhnlich zusammen mit amorphen Phosphaten vor von denen er makroskopisch nicht zu unterscheiden ist Mikroskopisch zeigt er sich in Form grauweißer kleiner Körner oder Kugeln die oft hantelförmig aneinander gelagert sind Überaus charakteristisch ist sein mikrochemisches Verhalten Auf Zusatz einer verdünnten Mineralsäure lösen sich die Carbonate unter Entwicklung von CO_2 auf unter dem Mikroskop erscheint dann das ganze Gesichtsfeld mit kleinen Gasblasen bedeckt.

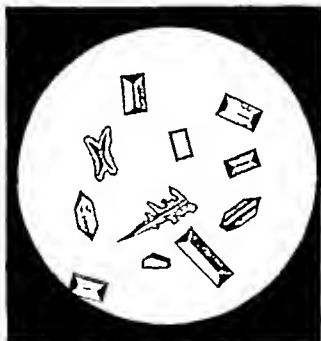
Amorphe Erdphosphate (phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia) (vgl. Fig. 30) Sie fallen am häufigsten aus alkalisch reagierendem Harn aus können sich jedoch auch im Sediment des amphoteren und schwach sauren Urins finden Sie bilden einen feinflockigen grauweißen leicht beweglichen Niederschlag

Mikroskopisch erscheinen sie als feinkörnige ungefärbte Masse die sich von anderen ähnlich aussehenden amorphen Sedimenten durch die mikrochemische Reaktion leicht unterscheiden läßt Die Erdphosphate lösen sich nach

Zusatz von Essigsäure ohne Gasentwicklung auf, bleiben aber beim Erwärmen ungelöst.

Phosphorsaure Ammoniakmagnesia (Tripelphosphate) (Fig 31) finden sich hauptsächlich im Niederschlag des alkalischen Urins sehr häufig

Fig 31



Tripelphosphatkristalle

zusammen mit amorphen Phosphaten und Carbonaten sowie im Eitersediment alkalisch reagierender Harn. Man begegnet ihnen jedoch auch nicht allzu selten im amphoteren und schwach sauren Harn beim Beginn der alkalischen Gärung.

Tripelphosphate bilden rhombische wasserhelle Prismen von sehr charakteristischem Aussehen. Meist präsentieren sie sich in Sargdeckelform, seltener zeigen

sie sich als federkiel oder farnkrautähnliche Gebilde. Durch Kombination dieser beiden Formen entstehen mitunter recht grotesk aussehende Kristalle die durch ihre leichte Löslichkeit auf Zusatz von Essigsäure als Tripelphosphate identifiziert werden können.

Phosphorsaure Magnesiakristalle finden sich in seltenen Fällen im alkalischen Harn in Form glänzender länglich rhombischer Tafeln die in Essigsäure leicht löslich sind.

Leucin und Tyrosin (Tafel IX, Fig 1) die gewöhnlich zusammen angetroffen werden kommen im normalen Urin nicht vor. Ihr Auftreten ist bei akuter gelber Leberatrophie, Phosphorvergiftungen, seltener bei Infektionskrankheiten wie Typhus und Variola und bei schweren Bluterkrankungen beobachtet.

Die Tyrosinkristalle die ebenso wie die des Leucins meist grünlichgelb gefärbt sind, bilden aus feinsten Nadeln zusammengesetzte Büschel, die Leucinkristalle Kugeln die meist gleichzeitig eine radiäre und konzentrische Streifung erkennen lassen. Auf den größeren Kugeln sieht man öfters kleinere buckelförmig aufgesetzt.

Mikrochemische Reaktionen. Leucin ist löslich in Säuren und Alkalen, unlöslich in Alkohol und Äther. Die Kristalle des harnsauren Ammons, mit welchen die Leucinkristalle verwechselt werden können, unterscheiden sich von ihnen durch das Auftreten von Harnsäurekristallen nach der Auflösung in Essigsäure.

Tyrosin ist unlöslich in Essigsäure, Alkohol und Äther, löslich in verdünnten Mineralsäuren, Alkalen und Ammoniak. Über den chemischen Nachweis siehe S. 189.

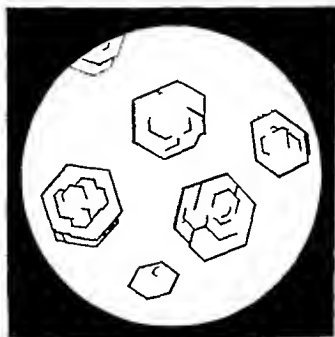
Cystin (Fig. 32) findet sich im Sediment in den seltenen Fällen von Cystinurie; es handelt sich dabei um eine Störung des Eiweißstoffwechsels bei der diese Substanz — eine Aminosäure — dem weiteren Abbau zum Teil entgeht. Cystin kristallisiert in charakteristischen farblosen sechsseitigen Tafeln die häufig übereinander geschichtet sind.

Cystin ist im Gegensatz zur Harnsäure in Salzsäure und Ammoniak löslich, es ist unlöslich in Essigsäure. Setzt

man zur ammoniakalischen Lösung Essigsäure hinzu oder läßt man Ammoniak langsam verdunsten so fallen die Cystinkristalle in Form sechseckiger Tafeln aus.

Hippursäure. Hippursäurekristalle zeigen sich sehr selten im Sediment des Harnes. Die Hippursäure kristallisiert in farblosen Nadeln und rhombischen Prismen

Fig. 32.



Cystinkristalle.

die sternförmig angeordnet sein können. Sie ist in Essigsäure unlöslich.

Cholesterin erscheint ebenfalls sehr selten im Niederschlag des Harnes. Die Cholesterinkristalle präsentieren sich als farblose Tafeln, die nicht selten übereinander geschichtet liegen und winklig einspringende Ecken zeigen. Mikrochemische Reaktion vgl. Seite 114.

Xanthin ist trotzdem es normalerweise im Harn vorkommt bisher nur in ganz vereinzelten Fällen im Sediment gefunden worden. Es bildet wetzsteinförmige Kristalle die zum Unterschied von Harnsäure im verdünnten Ammoniak und Salzsäure löslich sind

Von den im Harn vorkommenden Farbstoffen können Gallen und Blutfarbstoff sowie Indigo mitunter zur Bildung von amorphen und kristallinen Niederschlägen führen

Bilirubin. Beim Icterus neonatorum und Icterus gravis Erwachsener kann besonders wenn der Harn stark sauer ist Gallenfarbstoff in Form orangefarbener amorpher Körnchen oder gelber Kristalle in Gestalt von Nadeln und rhombischen Tafeln ausfallen. Man findet die Körnchen und Kristalle oft in Epithelien, Leukocyten oder Fetttröpfchen eingelagert.

Hämoglobin. Bei Blutungen aus den Nieren und Harnwegen sowie bei Hämoglobinurie kommt es nicht selten zur Abscheidung von Blutpigment in Form rot bis braungelber Körnchen und Schollen. Besonders in schweren Fällen von Hämoglobinurie kann Blutfarbstoff in großer Menge ausfallen und ist dann oft zu zylindrischen Gebilden angeordnet (Pigmentzylinder). Seltener zeigt sich der Blutfarbstoff in Gestalt sogenannter Hämatoidinkristalle. Diese gleichen in Farbe und Aussehen den oben beschriebenen Bilirubinkristallen mit denen sie vielfach für identisch gehalten werden.

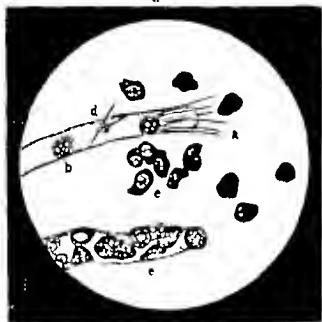
Indigo. Bei alkalischer Zersetzung indikanreicher Harnes kommt es mitunter durch Oxydation des Indikans zur Bildung von Indigoblau. Die blauen schon makroskopisch durch ihre Farbe auffallenden Kristalle erscheinen als kleine rhombische Tafeln oder büschelförmig gruppierte Nadeln die in Chloroform mit blauer Farbe löslich sind.

Fett und Fettsäurenadeln (vgl. Fig. 33). Beim Vorkommen von Fett im Urin ist stets zu berücksichtigen, daß es sich um eine zufällige Verunreinigung durch eingefettete Katheter, Suppositorien, fetthaltige Gefäße usw.

handeln kann. Unter pathologischen Verhältnissen wird Fett in größeren bereits makroskopisch erkennbaren Mengen nur in den seltenen Fällen von Lipurie und Chylurie im Harn angetroffen.

Mikroskopisch erscheint das Fett in Form stark lichtbrechender Tröpfchen und Körnchen mit scharfen

Fig. 33



a Fettsäurenadeln b fettig degenerierte Nierenepithelien (Fettkörnchenzellen), c Nierenepithelien, d hyaliner Zylinder e mit Nierenepithelien besetzter Zylinder

dunklen Konturen entweder frei in der Flüssigkeit schwimmend oder anderen Formelementen wie z. B. Zylindern aufgelagert oder als Produkt der fettigen Degeneration des Protoplasmas innerhalb der Zellen liegend. Nicht selten sind die letzteren so dicht mit Fettkugeln angefüllt daß auch der Kern vollkommen unsichtbar wird und die Zelle das Aussehen eines Kolostrumkörperchens erhält (Fettkörnchenzellen Fig. 33). Bei der Untersuchung

Im Polarisationsmikroskop zeigen die Fettsubstanzen des Harnsedimentes nicht selten eine Doppellichtbrechung. Diese doppeltbrechenden Lipolde sollen nach *Frits Munk* eine wichtige diagnostische Bedeutung, für die Unterscheidung zwischen akut entzündlichen und degenerativen Erkrankungen der Nieren besitzen. Sie soll: nur für letztere charakteristisch sein. Diese Auffassung wird jedoch durch die Erfahrungen einer Reihe von Autoren in der neuesten Zeit widerlegt.

Mitunter begegnet man neben den Fettkörnchen auch Fettsäurekristallen. Sie erscheinen als gerade oder schwungene Nadeln, die oft sternförmig gruppiert sind und strahlenförmig von einem Fetttropfen ausgehen.

Fett färbt sich mit 1% Osmiumsäure schwarz, mit einer gesättigten alkoholischen Lösung von Sudan III karminrot. Es ist chemisch charakterisiert durch seine Löslichkeit in Äther, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

Organisierte Sedimente.

Epithelien. Die im Harnsediment vorkommenden Epithelien bieten ein überaus vielgestaltiges Bild dar. Man kann sie nach ihrem Ursprungsort in drei Kategorien teilen:

- 1 Epithelien der ableitenden Harnwege
- 2 Nierenepithelien
- 3 Epithelien aus den Genitalien (Präputium, Vagina, Uterus)

Eingehende histologische Untersuchungen haben gezeigt, daß der gesamte Harntrakt vom Nierenbecken bis zur Urethra von einem mehrschichtigen Epithel ausgekleidet ist, das bis auf geringe lokale Differenzen überall den gleichen Typus zeigt. Die oberflächliche Schicht wird zumeist von polygonalen ein- oder mehrschichtigen Plattenepithelien gebildet, die an ihrer unteren Fläche Einbuchtungen zeigen, die durch vorspringende Fortsätze voneinander getrennt sind. In diese Einbuchtungen

ragen die Zellen der zweiten Schicht hinein die sich aus mehreren Reihen ovaler birnenförmiger geschwänzter Zellen zusammensetzt. Die unterste Schicht bilden kleine polygonale oder abgerundete Zellen mit großen Kernen. Der vorderste Teil der Urethra bis zur Fossa navicularis ist von einem mehrschichtigen Pflasterepithel ausgekleidet, während die oberflächliche Schicht der Pars cavernosa und membranacea urethrae aus Zylinderepithelien besteht.

Alle diese Zellformen können in wechselnder Menge im Sediment des Harnes angetroffen werden ohne daß es jedoch wie aus dem Gesagten ersichtlich möglich wäre, nach ihrem Aussehen zu entscheiden welchem Abschnitt der harnableitenden Wege sie entstammen. So muß auch die vielfach verbreitete Ansicht daß das Auftreten geschwänzter Epithelien im Harnsediment durch das Bestehen einer Pyelitis bedingt sei als irrig zurückgewiesen werden, seitdem die histologische Forschung gezeigt hat, daß diese Zellform keineswegs dem Nierenbecken eigentümlich ist.

Jeder normale Harn enthält in der Nubekula bzw. im Niederschlag vereinzelte Plattenepithelien. Kommt es zu entzündlichen Prozessen des Harntractus so erscheinen neben anderen Produkten der Entzündung auch die verschiedenen Formen der Epithelzellen in reichlicherer Menge im Sediment. Die Epithelzellen zeigen häufig alle möglichen Degenerationserscheinungen sie sind aufgequollen die Kerne undeutlich das Protoplasma kann Vakuolen enthalten und fettig oder hyalin entartet sein.

Nierenepithelien (Tafel X Fig. 3). Sie präsentieren sich als rundliche oder kubische scharf begrenzte Zellen mit großen oft bläschenförmigen Kernen. Das Protoplasma ist feingekörnt und meist mehr oder weniger fettig degeneriert. Ihre Größe übertrifft wenig die der weißen Blutkörperchen von denen sie häufig nur durch ihren undeutlichen Kern und ihre scharfen Konturen zu unterscheiden sind. Liegen diese Zellen einzeln so sind sie infolge ihrer Ähnlichkeit mit den Epithelien der untersten

Schicht der harnableitenden Wege nicht von diesen zu unterscheiden. Erst ihre charakteristische Anordnung zu so genannten Epithelschläuchen oder das gleichzeitige Vorkommen von Zylindern denen sie aufgelagert sind sichert ihren renalen Ursprung. Im ikterischen Harn sind diese Epithellen oft gelb gefärbt.

Fig. 34



Plattenepithelien aus den äußeren Genitalien

Die Epithelien aus den äußeren Genitalien (Fig. 34) die sich im Harn finden stellen große Pflasterzellen dar die beim Manne von dem Präputium bei der Frau aus Vulva und Vagina stammen. Diese Zellen erscheinen häufig wie gefaltet und mit umgeschlagenen Rändern. Im Frauenharn in dem sie normalerweise in großer Anzahl vorhanden sind sieht man oft schon mit bloßem Auge weiße Flock

chen die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als zusammenhängende Membranen aus großen Plattenepithelien erweisen.

Leukocyten (Eiterkörperchen Tafel IX, Fig. 2) Das Sediment jedes normalen Harnes enthält vereinzelte Leukocyten denen jedoch eine diagnostische Bedeutung nicht zukommt. Im Harn von Frauen welche an Fluor leiden treten die Leukocyten reichlicher auf ohne auf eine Erkrankung des Harnapparates hinzuweisen. In großen Mengen finden sich die Leukocyten im Harn als Bestandteil des Eiters. Der Urin erscheint dann mehr oder weniger trübe und bildet beim Stehen einen Niederschlag der je nach der Reaktion des Harnes einen verschiedenen Charakter zeigt. Im sauren amphoteren und schwach alkalischen Urin bildet der Eiter einen undurchsichtigen flockigen grau oder gelbweiß gefärbten Bodensatz welcher vollkommen homogen erscheint oder fadenförmige und krümelige Einschlüsse von Blut Kristallen usw. enthält. Im Gegensatz zu dem ähnlich aussehenden Phosphatniederschlag ist der eitrige in Essigsäure unlöslich und verwandelt sich auf Zusatz von 10%iger Natronlauge (Probe von *Donné*) in eine glasig-schleimige fadenziehende Masse wie sie auch das Eitersediment des stark alkalischen und ammoniakalischen Harnes darstellt. Beim Ausgießen des Gefäßes fällt ein derartiger Bodensatz häufig als gallertartiges zusammenhängendes Koagulum heraus.

Auch bei der mikroskopischen Untersuchung wechselt das Bild welches die Leukocyten darbieten mit der Reaktion des Harnes. Im sauren bis schwach alkalischen Urin zeigen sie sich als runde farblose Zellen mit körnigem lichtbrechendem Protoplasma. Sie besitzen einen oder mehrere Kerne die ohne Zusatz von Reagenzien nicht deutlich erkennbar sind. Läßt man jedoch einen Tropfen 5%ige Essigsäure unter das Deckglas laufen so verschwindet die Körnung das Protoplasma wird transparent und es werden ein unregelmäßig gestalteter oder mehrere oft hufeisenförmig gelagerte Kerne deutlich sichtbar.

Im stark alkalischen und ammoniakalischen Urin finden sich die Eiterkörperchen gewöhnlich im Zustande der Degeneration. Sie sind glasig aufgequollen durchsichtig die Granula sind verschwunden oder umgeben als schmaler peripherer Saum die helle zentrale Zone in welcher der Kern noch deutlich sichtbar ist. Mit dem Fortschreiten der Degeneration verwischen sich die Konturen der einzelnen Zellen auch die Kerne werden undeutlich und man sieht schließlich die Leukocyten in einen körnigen Detritus verwandelt in dem einzelne freie Kerne und wenige erhalten gebliebene Zellen sichtbar sind.

Vor einer Verwechslung dieser Zerfallsprodukte der Leukocyten mit amorphen Phosphaten schützt ihre Unlöslichkeit in Essigsäure.

Zur Differentialdiagnose zwischen akuten und chronischen Eiterungen ist von *Snyder* die Vitalfärbung der Leukocyten angegeben worden. Hierzu wird ein Farbstoff der ein Gemisch aus Kongorot und Trypanblau darstellt, benutzt (Hersteller Chem. Fabrik Promonta, Hamburg). Die Leukocyten bei akuten Entzündungen nehmen größtenteils den Farbstoff nicht auf während bei chronischen Entzündungen und abheilenden akuten der Farbstoff fort aufgenommen wird. Epithelien aus den oberen Schichten färben sich intensiver als solche von tieferen Teilen der Schleimhaut.

Rote Blutkörperchen (Tafel IV, Fig. 2) zeigen sich als runde bikonkave gelb gefärbte Scheiben. Oft füllen sie das ganze Gesichtsfeld aus und lassen andere Formelemente nicht erkennen.

Sehr häufig bieten die Erythrocyten Veränderungen in Form und Farbe dar welche von der Konzentration des Harnes seiner Reaktion und der Dauer des Aufenthaltes in demselben bedingt sind. Während sie im schwach sauren Urin lange ihr typisches Aussehen bewahren erscheinen sie im konzentrierten und stark sauren Harn geschrumpft und zeigen dann die bekannte Stechapfelform.

Nicht selten wird der Farbstoff ausgelaugt und die roten Blutkörperchen erscheinen als farblose ringförmige Gebilde (Blutschatten) die besonders wenn sie vereinzelt auftreten nur schwer erkennbar sind. Blutschatten stammen meist aus der Niere.

Rote Blutkörperchen können mitunter mit den im Harn vorkommenden Hefezellen verwechselt werden. Zur Unterscheidung setzt man einen Tropfen 5%iger Essigsäure hinzu rote Blutkörperchen werden fast vollständig aufgelöst es bleiben nur Blutschatten Hefezellen verändern sich nicht. Zur Differenzierung kann auch die Benzidinprobe auf Blut benutzt werden.

Nicht selten findet man im bluthaltigen Harn Gerinnsel, die auch mit bloßem Auge wahrnehmbar sind. Sie bieten in ihrem makroskopischen Aussehen mannigfache Unterschiede dar sie sind bald unregelmäßig klumpig oder flockig gestaltet bald erscheinen sie als fadenförmige stäbchen oder wurmartige Gebilde welche die Dicke eines Fingers und die Länge von mehreren Zentimetern erreichen können. Sie sind rot rotbraun oder schwarzbraun häufig auch grauweiß gefärbt. Im letzteren Falle handelt es sich um Koagula die schon längere Zeit dem Harn beigemischt waren.

Eine diagnostische Bedeutung wird den langen, regen wurmartigen Gerinnseln zugeschrieben. Da der Ureter als ihre Bildungstätte gilt wird bei ihrem Auftreten die Quelle der Blutung in den Harnleiter selbst oder in die Niere bzw. das Nierenbecken verlegt. Die Form des Gerinnsels allein genügt jedoch nicht zur Feststellung des Ortes der Blutung man muß vielmehr alle anderen die Hämaturie begleitenden Erscheinungen dazu in Betracht ziehen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigen die Blutkoagula ein Netzwerk von Fibrinfasern dessen Maschen mit unversehrten oder mehr oder minder veränderten roten Blutkörperchen in wechselnder Zahl ausgefüllt sind.

Fibrin (Tafel X Fig 1) Neben den beschriebenen Blutgerinnseln deren Gerüstsubstanzen Fibrinfasern bilden findet man sowohl im blutigen Harn als auch im Urin nach Ablauf der Hämaturie nur aus Fibrinfasern bestehende Gebilde.

In größerer makroskopisch sichtbarer Menge wird Fibrin mit dem Harn in den seltenen Fällen sogenannter Fibrinurie und bei Chylurie ausgeschieden. Hier bildet es entweder schon bei der Entleerung des Urins oder erst einige Zeit nachher weiße gallertartige Gerinnsel. Ganz kleine nur mikroskopisch nachweisbare Fibringerinnsel findet man häufig im eitrigen Harn bei Pyelitis.

Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigt sich, daß die Fibringerinnsel aus Bündeln parallel gelagerter lichtbrechender Fasern bestehen, die weiß oder rötlichgelb gefärbt sind.

Harnzylinder (Tafel V, Fig. 2 und Tafel VI Fig. 1). Die Harnzylinder sind drehrunde walzenförmige Gebilde von wechselnder Länge und Dicke, mit scharf abgegrenzten parallelen Konturen und abgerundeten Enden. Sie verlaufen bald geradlinig, bald spiralförmig gewunden, oft sind sie geknickt oder zeigen am Rande Einkerbungen. Häufig erscheint das eine Ende des Zylinders schräg abgebrochen und auch Bruchstücke, die nur durch Vergleich mit wohl erhaltenen Zylindern als solche erkannt werden können, begegnet man nicht selten.

Die Zylinder sind renalen Ursprunges und verdanken ihre Form den Harnkanälchen, aus welchen sie vom Urin herausgespült werden.

Man unterscheidet 1 Zylinder, die aus Zellen zusammengesetzt sind, 2 granulierte, 3 hyaline, 4 wachsartige Zylinder.

Die Zylinder der ersten Gruppe werden je nach der Zellform, aus der sie gebildet sind, als epitheliale, Blutkörperchen- oder Leukocytenzylinder bezeichnet.

Die Nierenepithelien, aus welchen sich die epithelialen Zylinder zusammensetzen, sind fast nie vollkommen unversehrt, meist sind sie körnig oder fettig degeneriert.

Ist der Zerfall noch weiter vorgeschritten, sind die Zellgrenzen verwischt, die Kerne nur schwer zu erkennen oder ganz verschwunden, so geht schließlich der epitheliale

Charakter völlig verloren und es entsteht das Bild des granulierten Zylinders. Nicht selten zeigt die eine Hälfte eines Zylinders noch deutlich epitheliales Aussehen während die andere schon granuliert erscheint.

Die granulierten Zylinder bieten eine gekörnte Oberfläche dar die ihnen ein dunkles Aussehen verleiht. Die Granulationen die ihrer Entstehungsweise entsprechend aus Eiweiß- und Fettkörnchen bestehen können sind bald kleiner bald größer und man unterscheidet darnach fein und grobgranulierte Zylinder. Sind es hauptsächlich feinste Fetttröpfchen, die sie zusammensetzen so spricht man auch von Fettkörnchenzylindern die durch ihr glänzendes Aussehen das sie dem Lichtbrechungsvermögen des Fettes verdanken auffallen.

Im Frauenharn der oft zahlreiche körnig degenerierte, länglich geformte Epithellen aus den äußeren Genitalien enthält kann das Erkennen der granulierten Zylinder erfahrungsgemäß Schwierigkeiten machen jedoch schützt vor einer Verwechslung mit den Epithellen der meist deutlich sichtbare Kern der letzteren.

Die hyalinen Zylinder (Tafel X Fig 2) zeigen eine blasse ganz homogene durchsichtige Grundsubstanz deren Umrisse aber stets deutlich hervortreten. Oft sind diese struktur und farblosen Gebilde so zart daß sie nicht ohne Muhe erkannt werden können. Erleichtert wird ihr Auffinden durch die Auflagerungen die sie vielfach besitzen (zellige Elemente wie Nierenepithellen rote und weiße Blutkörperchen Fetttröpfchen).

Um das Auffinden der hyalinen Zylinder zu erleichtern, empfiehlt es sich das Präparat mit kleiner Vergrößerung (*Leits* Objekt 3) bei schwacher Beleuchtung (Irisblende) zu untersuchen. Die hyalinen Zylinder können unter Umständen im Harn aufgelöst werden. So verschwinden die hyalinen Zylinder sehr häufig 1 bei langem Stehen des sauren Harnes (Verdauung) 2 in bakteriellen Harnen,

3 bei alkalischer Zersetzung des Harnes 4 in sehr verdünnten Harnen

Das Auffinden der Zylinder ist besonders schwierig in Uratsedimenten. Die Urate werden in warmer physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und die Lösung wird nochmals auszentrifugiert.

Die wachsartigen Zylinder (Tafel VI Fig 1) besitzen ebenso wie die hyalinen eine homogene Grundsubstanz sind jedoch breiter voluminöser und von derberer Konsistenz. Sie sind von wachsartigem mattglänzendem Aussehen und gelblicher Färbung und zeigen häufig tiefe seitliche Einkerbungen mitunter findet man auffallend breite kurze Formen. *Lachwitz* legt auf die Beachtung der Breite der Zylinder einen großen Wert. Breite Zylinder entstehen nämlich in Kanälchen von ungewöhnlich großem Lumen. Die Erweiterung der Kanälchen erfolgt aber nur bei akuten und chronischen Nierenprozessen oft infolge Verstopfung eines Kanälchens durch einen Zylinder bei chronischen Prozessen auch durch Ablösung des Epithels.

Von den echten Zylindern zu trennen sind zylinderähnliche Gebilde die man in normalen oder pathologischen Harnen antrifft die sogenannten *Zylindroide*. Am ehesten können sie zur Verwechslung mit hyalinen Zylindern Anlaß geben. Im Gegensatz zu diesen erscheint ihre Grundsubstanz nicht homogen sondern zeigt meist deutliche Längsstreifung ferner enden sie gewöhnlich auf gefasert oder gabelig geteilt.

Manche Autoren betrachten sie als Vorstufen der hyalinen Zylinder. Hierher gehören auch die hyalinen Tropfen und Kugeln die nicht selten zylinderförmige Anhäufungen bilden (Tropfenzylinder). Sie stammen nach *Quensel* aus den Epithellen der Hauptstücke (sogenannte hyalintropfige Degeneration) und sind auch als Vorstufen der hyalinen Zylinder anzusprechen.

Nicht selten findet man im Sediment Bakterienhaufen die in ihrer Form granullierten Zylindern gleichen und als

Bakterienzylinder bezeichnet werden. Die Betrachtung mit starker Vergrößerung und schließlich die Färbung mit verdünnten wässerigen Lösungen von Fuchsin oder Methylenblau lassen einen Zweifel über die Natur dieser Gebilde nicht aufkommen.

Eine eigentümliche Art von zylinderförmigen Gebilden wurden im Harn bei Eintritt des Komas bzw. bei Zuckerkranken gefunden. Diese sogenannten *Kälschen Zylinder* sind kurz und bestehen aus stark lichtbrechenden Körnchen. Da gleichzeitig auch Eiweiß ausgeschieden wird, so wird ihre Genese auf Nierenschädigung zurück geführt.

Gewebspartikel. Das Auftreten von Gewebefragmenten im Harn ist im ganzen ein ziemlich seltener Befund. Sie können im trüben Urin besonders wenn er Blut und Eiter enthält leicht übersehen werden. Um dies zu vermeiden gießt man derartigen Harn am besten in eine flache Schale aus, in der man ihn bequem durchmustern kann. Man fischt die Partikel heraus und bringt sie gesondert zur Untersuchung. Die Entleerung von Gewebspartikeln mit dem Harn ist beobachtet bei Tumoren der Nieren und harnableitenden Wege, bei schwerer septischer Cystitis, die zur Gangrän der Blasenschleimhaut geführt hat sowie bei eitriger Nierenentzündung. Auch wenn Tumoren der Nachbarorgane in den Harnapparat durchbrechen können natürlich Geschwulstpartikel mit dem Urin abgehen. Gewebspartikel müssen einer speziellen histologischen Untersuchung unterzogen werden.

Harnfilamente (Urethralfäden) (Tafel XII Fig. 1). Als Harnfilamente bezeichnet man kleine Fäden und Flocken, die als Produkt der eitrigen oder schleimigen Sekretion der Harnröhre und Genitaldrüsen mit dem Urin entleert werden. Sie sind von wechselnder Größe, oft 1 bis 2 cm lang und erscheinen schleimig-gelatinös oder gelb und undurchsichtig. Aber auch mannigfache Übergänge zwischen diesen beiden Typen kommen zur Beobachtung.

Die Filamente finden sich im Harn bei chronischer Gonorrhöe (Tripperfäden) ferner im Urin an Urethrorrhöe leidender Neurastheniker mitunter auch im ersten Morgenharn Gesunder

Das Bild das die Urethralfäden in den beiden zuletzt genannten Fällen unter dem Mikroskop darbieten ist das gleiche. Sie bestehen aus einer homogenen durchsichtigen Grundsubstanz in die Epithelien in wechseln der Menge und vereinzelte Leukocyten sowie oft auch amorphe und kristallinische Salze eingebettet sind

Die Tripperfäden setzen sich entweder aus dichten Anhäufungen von Leukocyten zusammen oder sie enthalten Leukocyten und Epithelzellen nebeneinander wobei bald die einen bald die anderen vorwiegen schließlich können sie auch allein aus Epithelzellen gebildet sein In Fällen in welchen der Urinentleerung eine Samenentleerung vorausgegangen ist sowie bei Personen die an Spermatorrhöe leiden finden sich gleichzeitig mehr oder weniger zahlreiche Spermatozoen in den Filamenten

Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigt sich daß das makroskopische Aussehen der Urethralfäden von ihrem Gehalt an zelligen Elementen abhängt. Je zellärmer sie sind desto mehr entsprechen sie dem Typus der schleimig gelatnösen Fäden

Zur mikroskopischen Untersuchung der Filamente benutzt man am besten den ersten Morgenharn von dem man nur die ersten 10 bis 15 cm^3 auffangen läßt da besonders die gelben Fäden gewöhnlich sehr bröckelig sind und sich in einer größeren Harnmenge leicht auflösen

Man fischt die Fäden mit einer Pipette oder gebogenen Nadel heraus und breitet sie vorsichtig auf dem Objektträger zur Untersuchung aus

Sekret aus den Genitaldrüsen (Tafel VIII Fig. 1) Linen recht häufigen Bestandteil des Harnsedimentes bilden die Spermatozoen Sie finden sich im Urin nach Coitus und Pollutionen ferner bei Erkrankungen

der Genitalorgane sowie nach Krampfanfällen und schweren fieberhaften Krankheiten, besonders bei Typhus. Sie treten bald vereinzelt bald in großer Menge auf und sind fadenförmig angeordnet. Auch im Urin von Frauen nach einer Kohabitation entleert wird können Spermatozoen nachweisbar sein. Daneben zeigen sich bis zu große rundliche Zellen mit deutlichen Kernen. Samenfäden einschließen. Nicht selten sieht man feine zarte blasse zylindrische Gebilde mit homogener Gelatin-Substanz die aus den Hodenkanälchen stammen und ihrem Aussehen hyalinen Zylindern gleichen sogen. *Hodenzyylinder*. Die gleichzeitige Anwesenheit von Spermatozoen die den Hodenzy lindern oft an sich differenziert diese von echten hyalinen Zylindern.

Prostatasekret ist bei Erkrankungen der Prostata und nach Massage derselben (Expressionsharn) im Urin beigemischt. Es finden sich alsdann im Sediment reichlich hellglänzende kleine Körper *Lecithinkörnchen* genannt ferner rundlich oder eckig gestaltete Gebilde mit deutlicher konzentrischer Schichtung die als *Prostatakörper* oder auch weil sie in ihrem Aussehen Stärkekörnchen gleichen als *Corpora amylacea* bezeichnet werden.

Tierische Parasiten Unter den im Harn kommenden tierischen Parasiten ist es vor allem der *Echinokokkus* der unser Interesse erweckt da die Eier entweder in unseren Breiten nicht beobachtet werden nur zufällige Befunde darstellen ohne eine pathologische Bedeutung zu besitzen.

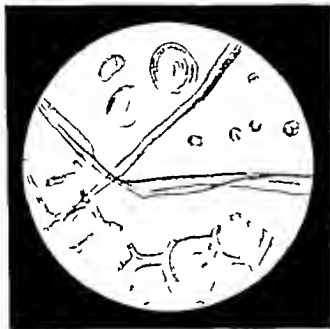
Echinokokkusbestandteile (Tafel VII) Erscheinen im Urin wenn der Echinokokkus sich im Harnapparat selbst entwickelt hat oder aus der Niere in denselben durchgebrochen ist.

Man findet alsdann ganze Blasen die in großer Menge entleert werden können ferner die überaus charakteristischen Haken sowie einzelne Membranfetzen die deutlich geschichtete Struktur sie leicht erkennen läßt.

Seltenere Befunde stellen dar Embryonen der *Filaria sanguinis* (bei tropischer Chylurie) Eier von *Oxyuris vermicularis* *Eustrongylus gigas* *Distoma haematobium* (bei Bilharziakrankheit)

Man findet im Sediment auch Infusorien *Cercomonas urinarius* und *Trichomonas vaginalis*

Fig 35



Pflanzenzellen Stäbke, Pflanzenfasern

Als zufällige Beimengungen sieht man mitunter im Sediment Amöben Fliegenlarven auch *Pediculi pubis*

Verunreinigungen des Sedimentes (Fig 35) Das Vorkommen von Nahrungsresten Pflanzenzellen Muskelfasern usw im Sediment weist darauf hin daß Bestandteile der Faeces in den Harn gelangt sind. Ist eine Blasenmastdarmfistel die Ursache dieser Beimengungen

so wird der Harn gleichzeitig die Symptome einer schweren Cystitis zeigen. Sehr viel häufiger jedoch ist es ein mit Darminhalt verunreinigtes Uringefäß dem die im Niederschlag nachweisbaren Faecesbestandteile entstammen.

Ferner können sich Sputumreste Haare pflanzliche und tierische Fasern Amylonkörner Fett Schimmel und Sproßpilze als zufällige Bestandteile im Harnsediment finden.

Bakteriologische Untersuchung des Harnes

Die Entnahme des Harnes zur bakteriologischen Untersuchung geschieht am besten mittels sterilen Katheters nach gründlicher Reinigung der äußeren Genitalien und Ausspülung der vorderen Harnröhre, die normalerweise der Sitz einer reichen Bakterienflora ist. Den zuerst sich entleerenden Harn, der trotz der Ausspülung noch Mikroorganismen oder Sekret enthalten kann, das durch den Katheter aus der Harnröhre in die Blase verschleppt sind, laßt man ablaufen und fangt erst die nachfolgende Portion in einem sterilen Gefäß auf. Ist aus irgendeinem Grunde Katheterharn nicht zu erlangen, so laßt man den Urin entleeren, nachdem eine Reinigung der äußeren Genitalien und Ausspülung der Harnröhre erfolgt sind. Zur Untersuchung verwendet man gleichfalls die zweite Portion welche die durch den ersten Urinstrahl bereits abgespülte Harnröhre passiert hat.

Die Untersuchung des Urins soll möglichst bald nach seiner Entleerung vorgenommen werden, da die in demselben enthaltenen Mikroorganismen sich meist schnell vermehren.

In vielen Fällen, besonders bei Untersuchung auf Tuberkelbacillen, ist es empfehlenswert, zunächst den Urin in der Flasche sich absetzen zu lassen, den mit steriler Ballonpipette entnommenen Bodensatz in sterilen Röhrchen zu zentrifugieren und erst das so erhaltene Sediment zur Untersuchung zu benutzen. In anderen Fällen vor allem wenn der Harn reich an Bakterien ist, z. B. bei Bakteriurie genügt es, den gut umgeschüttelten Harn zu zentrifugieren. In uratreichen Harnen bringt man zunächst die Salze durch leichtes Erwärmen zur Auflösung; zu diesem Zwecke kann man den Urin auf kurze Zeit in den Brutschrank bei 37° stellen.

Methoden der Untersuchung

Bei der bakteriologischen Untersuchung des Harnes gelangen das gefärbte Ausstrichpräparat das Kulturverfahren und der Tierversuch zur Verwendung.

Das Ausstrichpräparat wird in der üblichen Weise aus dem Sediment des zentrifugierten Harnes hergestellt. Bei Anwesenheit zahlreicher Kristallsalze wird am besten in absolutem Alkohol zehn Minuten bei Gegen-

wart von Fett oder Blut in Alkohol und Äther aa. drei Minuten fixiert. Die Präparate werden ca. 1 Minute mit verdünntem Methylenblau ohne zu erwärmen ferner nach der *Graesschen* Methode und nach *Ziehl Neelsen* gefärbt.

Kulturvedfahren. Zur Isolierung der im Harn befindlichen Bakterien bedient man sich der üblichen Methoden

Der Tierversuch kommt hauptsächlich in Frage wenn es sich um die Diagnose einer tuberkulösen Erkrankung der Harnorgane handelt. Als Versuchstier dient das Meerschweinchen

Bei der Untersuchung des Harnes kommen als Krankheitserreger besonders in Betracht die zu der Bacterium coli-Gruppe gehörigen Stäbchen *Bact. lactis aerogenes* ferner Tuberkelbacillen Staphylo- Strepto- Gonokokken *Mikrococcus ureae* Enterokokken Sarcinen Typhus bacillen *Proteus vulgaris* *Bac. pyocyaneus*.

Häufig zeigt sich in den aus dem Sediment des zentrifugierten Harnes gefärbten Präparaten ein Gemisch verschiedenartiger Mikroorganismen. Alsdann ist nicht zu entscheiden, welche Bakterien als eigentliche Erreger der Erkrankung anzusehen sind, zumal das Bild, das die Bakterienflora in diesen Fällen darbietet, nicht immer konstant ist sondern bei den einzelnen Untersuchungen wechselt. Es handelt sich hierbei um Zersetzungs Bakterien die sich erst nachträglich in der erkrankten Blase angesiedelt haben. Es hat daher keinen diagnostischen Wert, diese verschiedenen Bakterien zu isolieren und zu identifizieren.

Der weitaus häufigste Erreger von Cystitis Pyelitis und Bakteriurie ist das *Bacterium coli*. Der Harn zeigt solange keine Mischinfektion besteht saure Reaktion.

Unter dem Namen *Bacterium coli* wird eine Gruppe von Bacillen zusammengefaßt in deren Mittelpunkt das typische von *Escherich* aus dem Säuglingsdarm gezüchtete *Bacterium coli* steht. Weisen die einzelnen hierher gehörigen Arten auch in morphologischer und biologischer Beziehung Differenzen auf die bis zu einem gewissen Grade von den äußeren Lebensbedingungen abhängen so besitzen sie doch eine Reihe konstanter allen gemeinsamer Merkmale. Zu den letzteren zählen das üppige Wachstum auf allen gebräuchlichen Nährböden die mangelnde Fähigkeit zur Ver

flüssigung der Gelatine und zur Sporenbildung, die Etfärbung nach der *Grauschen* Methode Mannigfache Abweichungen im Sinne einer Steigerung oder Abschwächung zeigen die einzelnen Arten in ihrer Beweglichkeit der Zuckervergärung der Milchgerinnung, Indolbildung usw

Bacterium coli (Tafel XII Fig 2) zeigt sich in dem aus dem Harnsediment gefärbten Präparat als plumpes gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden von wechselnder Länge. Die Bakterien liegen einzeln paarweise oder in Haufen und bilden oft lange Scheinfäden seltener finden sie sich intracellulär

Die Züchtung auf Agar gelingt sehr leicht nach 24stündigem Wachstum bei 37° haben sich grauweiße Kolonien entwickelt

Über die Identifizierung der gesüchteten Bakterien durch Überimpfung auf Lackmusmolke, Neutralrotagar Milch usw vergleiche Untersuchung der Faeces auf Typhusbacillen.

Bei Entzündung der Harnwege die durch *Paracolibacillen* und *Bac. faecalis alcaligenes* hervorgerufen werden zeigt der Harn ebenfalls saure Reaktion. Beide Bakterienarten sind im mikroskopischen Präparat von *Bact. coli* nicht zu unterscheiden Die Differentialdiagnose ist nur auf kulturellem Wege zu stellen im Gegensatz zu *Bact. coli* zersetzen *Paracolibacillen* Milchzucker nicht und bilden in Lackmusmolke Alkali In ihrer Fähigkeit Traubenzucker unter Gasbildung zu zersetzen, Neutralrot zu reduzieren und Indol zu bilden stimmen sie mit *Bact. coli* überein. Auf der Endplatte bilden *Paracolibacillen* farblose Kolonien die Farbe des Lackmuslactoseagars verändern sie nicht. Sie gleichen daher in ihren biologischen Eigenschaften dem *Bac. paratyphus B* von dem sie sich durch die Indolbildung und die Agglutinationsprobe trennen lassen

Über die kulturellen Eigenschaften des *Bac. faec. alcaligenes* vgl Seite 120

Bacterium lactis aerogenes gehört wie *Bacterium coli* zu den normalen Darmbewohnern es wird als Erreger

von Cystitis und Pyelitis besonders bei Kindern allein oder zusammen mit *Bacterium coli* gefunden. Der Harn zeigt saure Reaktion. Die *Bac. aerogenes* sind gramnegative unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden von wechselnder Länge am häufigsten sind Formen die etwa dreimal so lang als breit sind sie liegen meistens in Diploform häufig bilden sie kurze Fäden sie sind von einer Kapsel umgeben. Sie wachsen leicht auf allen gebräuchlichen Nährböden am besten bei Körpertemperatur die Kulturen zeigen meist eine schleimige Beschaffenheit auf schrägem Agar bilden sie einen grauen saftigen Rasen. Es finden sich aber auch Kulturen denen die Schleimbildung fehlt. *Bac. aerogenes* vergären Traubenzucker bilden in Milchruckerbouillon Säure, koagulieren Milch und zeigen auf Kartoffeln üppiges Wachstum mit Gasbildung, trüben Lackmusmolke stark unter Rotfärbung und bilden kein Indol. Für Versuchstiere sind sie pathogen. *Bact. aerogenes* steht dem *Diplobacillus Friedländer* sehr nahe und unterscheidet sich von ihm durch die Fähigkeit Milch zu koagulieren die den *Friedländerschen* Bacillen fehlt. *Bacterium coli* ist im Gegensatz zum *Bacterium lactis aerogenes* beweglich und bildet Indol.

Staphylokokken (Tafel XIV Fig 2) und Streptokokken finden sich seltener als *Bacterium coli* als selbständige Krankheitserreger im Urin häufiger treten sie als misch infizierende Bakterien bei Cystitis und Pyelitis auf. Der Harn zeigt saure oder schwach alkalische Reaktion.

Beide Kokkenarten kommen infolge ihres gram positiven Verhaltens besonders deutlich in den Gram Präparaten zu Gesicht. Die Staphylokokken liegen nicht selten intracellulär. Differentialdiagnostisch kommen ihnen gegenüber die Gonokokken in Betracht von denen sie sich jedoch durch ihre Form ihr tinktorielles Verhalten und die leichte Züchtbarkeit auf den gebräuchlichen Nährböden ohne weiteres unterscheiden. Bezüglich des kulturellen Verhaltens vergleiche das Kapitel über die Untersuchung des Sputums.

Typhusbacillen Durch Typhusbacillen bedingte Cystitis und Bacteriurie tritt frühestens am Ende der zweiten oder Anfang der dritten Woche der Typhuserkrankung, meist jedoch später oft erst in der Rekonvaleszenz auf. Der Harn zeigt saure Reaktion und enthält gewöhnlich ungeheure Mengen von Typhusbacillen. Meist sind sie als einzige Bakterienart vorhanden.

Schon bei der Betrachtung des Sedimentes im hängen dem Tropfen fallen die zahlreichen lebhaft beweglichen Bacillen auf. Im gefärbten Präparat erscheinen sie als kleine gramnegative Stäbchen. Ihre Züchtung und Identifizierung geschieht nach der bei der Untersuchung des Faeces geschilderten Methode. Zur Anreicherung der Typhusbacillen im Harn leistet die Brillantgrünbouillon gute Dienste (vgl. Seite 132). Man verimpft 1 cm³ Harn.

Gonokokken Das Vorkommen von rein gonorrhöischen Cystitiden gehört zu den Seltenheiten. Gewöhnlich werden die im Anschluß an Gonorrhöe auftretenden Blasenentzündungen durch mischinfizierende Bakterien hervorgerufen. Die Diagnose der gonorrhöischen Cystitis unterliegt besonderen Schwierigkeiten, da selbst bei reichlichem Auftreten von Gonokokken im Harn nicht mit Sicherheit auszuschließen ist, daß sich nicht Eiter aus der Urethra posterior dem Blaseninhalt beigemischt hat.

Über den Nachweis der Gonokokken vgl. Untersuchung des Harnröhrensekretes

Micrococcus ureae wird in seltenen Fällen als selbstständiger Krankheitserreger häufiger als mischinfizierendes Bacterium im Harn gefunden. Die durch ihn erzeugte Cystitis zeigt infolge seiner Fähigkeit Harnstoff in Ammoniumcarbonat umzuwandeln alkalische Reaktion. In den gefärbten Präparaten liegen die grampositiven Kokken einzeln oder in Diploform häufig auch in Tetraden. Sie entwickeln sich gut auf den üblichen Nährböden und bilden auf Agar undurchsichtige porzellanweiße Kolonien. Die Eigenschaft des *Micrococcus ureae*, aus Harnstoff

Ammoniak zu bilden dient der Identifizierung der Reinkultur die zu diesem Zweck auf sauren sterilen Harn überimpft wird (Prüfung s S 267)

Enterokokken gehören zu den normalen Bewohnern des Darmes sie finden sich als Erreger von Cystitis und Pyelitis sowohl allein als auch zusammen mit anderen Bakterien vor allem Bact. coll.

Enterokokken sind grampositive Diplokokken von Lanzettform sie gleichen in ihrem Aussehen den Pneumokokken zeigen aber keine Kapseln In Präparaten aus Kulturen erscheinen sie stark pleomorph. Ausser Lanzettformen finden sich runde Formen vom Aussehen der Staphylokokken und lange stäbchenförmige Gebilde Neben Diplokokken sieht man kürzere aber auch längere Ketten aus runden und Lanzettformen. Auf Agar wachsen sie spärlich gut auf Ascites- und Blutagar auch schon bei Zimmertemperatur Es werden zwei Typen unterschieden Typus A bildet auf Blutagar sehr zarte schwärzliche Kolonien mit weißlichem Zentrum Typus B wächst erheblich üppiger und bildet weißliche staphylokokkenähnliche Kolonien mit schwarzem Rand Bouillon wird gleichmäßig getrübt Nach 18 bis 24 Stunden klärt sie sich allmählich unter Bildung eines weißlich schleimigen Bodensatzes der beim Schütteln fadenförmig in die Höhe steigt Die Enterokokken sind optochin unempfindlich galleunlöslich (Prüfung vgl. S 13) Aesculin wird vom Typus B aber nicht vom Typus A gespalten (s u.) Die meisten Zuckerarten werden von ihnen nicht zersetzt Sie besitzen große Widerstandsfähigkeit gegen Hitze. $\frac{1}{2}$ - bis 1stündiges Erwärmen der Kulturen auf 50° vermag sie nicht zu schädigen

Von den Pneumokokken unterscheiden sich die Enterokokken durch das Fehlen der Kapsel ihre Optochin unempfindlichkeit ihre Unlöslichkeit in Galle und Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen vom Streptococcus viridans durch ihr morphologisches Verhalten und ihre leichtere

Züchtbarkeit auf den üblichen Nährböden. In Galle-Milchzucker-Lackmus-Bouillon nach *Gundel* (10% Galle 3% Milchzucker 7% Lackmuslösung in gewöhnlicher Fleischwasserbouillon) kommen Pneumokokken und Streptococcus viridans nicht zur Entwicklung. Typus A des Enterokokkus wächst darin unter Rötung. Typus B unter starker Rötung und Niederschlagsbildung. In Lackmismilch nach *Herm* rufen nach 21stündiger Bebrütung Pneumokokken Rötung und Gerinnung hervor. Enterokokken Typus A und B Umschlag in Weiß unter Bildung eines roten Ringes an der Oberfläche. Typus B außerdem Gerinnung.

Nährboden zur Prüfung der Gallenempfindlichkeit

Glucose	0·2
Galle	20·0
4%iges Peptonwasser	ad 100·0

Nährboden zur Prüfung der Aesculinspaltung

Pepton	1·5
Natr. taurocholic.	0·5
Aesculin	0·1
Ferricitrat (Merck)	0·05
Aq. dest.	100·0

Bei Spaltung des Aesculins färbt sich die Flüssigkeit schwarz.

Proteus vulgaris. Bei der durch *Proteus vulgaris* hervorgerufenen Cystitis zeigt der Harn ammoniakalische Beschaffenheit. *Proteus vulgaris* findet sich allein oder zusammen mit anderen Mikroorganismen, besonders *Bact. coli*.

Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man lebhaft bewegliche Stäbchen von schwankender Größe, die oft lange geschlängelte Fäden bilden und sich meist nach *Gram* anfärben. Nur einzelne Individuen verhalten sich bei starker Färbung nicht ganz refraktär. Auf Agar bilden sie runde, bei durchfallendem Licht bläulich erscheinende bei auffallendem Licht grauweiß feucht erscheinende Kolonien. Auf Schrägagar entwickelt sich ein feuchter durchsichtiger schnell sich ausbreitender Belag. Charakteristisch ist das Wachstum auf 5% Gelatine. Es entstehen graue zarte Kolonien, die bald einsinken und

wellenförmige Vertiefungen bilden die in der Mitte eine weißliche Masse zeigen und von einem hellen Hof umgeben sind. Die Kolonien breiten sich über den Nährböden durch Bildung strahliger Ausläufer aus die sich von der Mutter Kolonie ganz trennen können. *Proteus vulgaris* vergärt Traubenzucker dagegen nicht. Milchsucker und Mannit peptonisiert häufig Milch die sich unter Bildung eines krümeligen Bodensatzes gelblich verfärbt. Er zersetzt Eiweißkörper unter Erzeugung stinkender Produkte Harnstoff unter Bildung von kohlensaurem Ammoniak. In Lackmusmolke wird anfangs Säure später meist Alkali gebildet bei anderen Stämmen erscheint die Lackmusmolke anfangs violett später farblos. In Grünlösung I „Löffler“ findet sich Gerinnung und Gasbildung. Grünlösung II bleibt unverändert. Bezüglich der Indolbildung zeigen die verschiedenen *Proteus*-Stämme kein einheitliches Verhalten. Der zur *Proteus*-Gruppe gehörige x 19 der aus dem Harn Fleckfieberkranker gezüchtet wurde, bildet stets Indol.

Zur Feststellung der Harnstoffzersetzung wird *B. Proteus* auf sterilen Harn verimpft. Geprüft wird nach 24stündiger Bebrütung bei 37° mit rotem Lackmuspapier das in das Reagensglas hineingehängt ohne mit Flüssigkeit in Berührung zu kommen durch die Ammoniakdämpfe blau gefärbt wird. Von den Vertretern der Typhus-coli-Gruppe die dem *Bac. proteus* in ihrem morphologischen und tinktorischen Verhalten gleichen ist er am sichersten durch das Wachstum auf der Gelatineplatte seine Fähigkeit Harnstoff zu zersetzen und mit Hilfe der Agglutinationsproben zu unterscheiden.

Bacillus pyocyaneus ist sowohl als selbständiger Krankheitserreger als auch zusammen mit anderen Bakterien bei Entzündungen der Blase gefunden worden. Der Harn wird durch ihn oft blaugrün gefärbt. (Über sein mikroskopisches und kulturelles Verhalten vgl. Seite 62.)

Tuberkelbacillen (Tafel XIV Fig. 1)

Der Harn, der bei tuberkulösen Erkrankungen der Harnorgane entleert wird, reagiert sauer solange nicht Zersetzungsbakterien in

die Blase gelangt sind Sauer reagierende Eiterharns mit einem im Verhältnis zur Menge des Liters hohen Eiweißgehalt, in denen weder im Ausstrichpräparat noch durch Kulturverfahren Bakterien nachweisbar sind erscheinen immer verdächtig auf Tuberkulose

Die Färbung der Präparate auf Tuberkelbacillen geschieht nach *Ziehl Neelsen*

Die Menge in der die Tuberkelbacillen im Harn erscheinen ist eine sehr wechselnde bei tuberkulöser Cystitis finden sie sich oft in großer Anzahl sie liegen dann einzeln oder in Haufen häufig in charakteristischen zopf- oder S-förmig gestalteten Zügen In anderen Fällen besonders bei beginnender Tuberkulose der Nieren, finden sie sich meist nur ganz vereinzelt. Eitriges Sediment kann auch nach der bei der Sputumuntersuchung geschilderten Antiforminmethode untersucht werden

Die kulturelle Untersuchung des Harnes auf Tuberkelbacillen geschieht nach der bei der Sputumuntersuchung angegebenen Methode. Es werden ca 150 bis 200 cm^3 Harn auch weniger je nach der Trübung in mehreren sterilen Zentrifugenröhrchen zentrifugiert, indem man immer wieder nach Abgießen auffüllt. Die Sedimente werden in je 1 cm^3 6- bis 10%iger Schwefelsäure, je nach der Menge der Begleitbakterien aufgeschwemmt und in einer Schüttelflasche gesammelt Dann wird so viel Schwefelsäure zugesetzt wie an 10 cm^3 fehlt Nach 20 Minuten langer Einwirkung der Schwefelsäure wird zentrifugiert und das Sediment auf Eiernährboden (vgl. Kap XII) verimpft Klare Urine sind zur kulturellen Untersuchung auf Tuberkelbacillen ungeeignet.

Mit Hilfe des Tierversuches gelingt mit großer Sicherheit auch dann noch der Nachweis der Tuberkelbacillen wenn sie mikroskopisch nicht nachweisbar waren Der Tierversuch ist nach unseren Erfahrungen auch der kulturellen Untersuchung an Sicherheit überlegen.

Bei der Untersuchung des Harnes auf Tuberkelbacillen ist das häufige Vorkommen von sog. Smegebacillen zu berücksichtigen. Im Katheterharn von Patienten, die vorher nicht katheterisiert worden sind, finden sie sich selten Tuberkel- und Smegebacillen

gehören zur Gruppe der saurefesten Bakterien und sind deshalb im gefärbten Ausstrichpräparat nicht sicher voneinander zu unterscheiden. Nur durch Tierversuch ist die Differentialdiagnose zu stellen. Tuberkelbacillen ruhen beim Meerschweinchen das typische Bild der Tuberkulose hervor. Smegmabacillen sind für Meerschweinchen nicht pathogen.

Ausführung des Tierversuches.

Zum Tierversuch, der mit halbwachsenden, circa 250 g schweren Meerschweinchen angestellt wird, benutzt man das durch gründliches Zentrifugieren des Harnes gewonnene Sediment nach Aufschwemmung in 1 bis 2 cm³ steriler physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon. Die Impfung erfolgt subcutan in die linke Kniefalte nachdem die Impfstelle rasiert und mit Alkohol abgetrocknet ist. Die subcutane Einspritzung verdient den Vorzug vor der intraperitonealen weil bei gleichzeitiger Vorhandensein anderer pathogener Keime nach intraperitonealer Injektion die Versuchstiere häufig vorzeitig zugrunde gehen. Ferner kann man nach subcutaner Impfung das Eintreten der Erkrankung am lebenden Tier beobachten, da es stets zuerst zu einer lokalen Tuberkulose an der Impfstelle kommt. Das Ausgehen der Erkrankung von der Impfstelle beweist, daß die Infektion wirklich durch das eingespritzte Untersuchungsmaterial hervorgerufen wurde. Sind im Sediment zahlreiche Bepfeiltbakterien mikroskopisch nachweisbar so wird es vor der Injektion mit 4 bis 5% Antiformin behandelt (vgl. Seite 39) das Antiforminsediment wird mit 5%iger Schwefelsäure- und 5%iger Natriumsulfatlösung neutralisiert und entfärbt (Färbung mit Lackmuspapier und Jodkaliumstärkepapier). Schließlich wird es mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen.

Bei positivem Ausfall des Versuches kommt es im Laufe der zweiten oder Anfang der dritten Woche zu einer Anschwellung der Lymphdrüsen an der Impfstelle (Kniefaltendrüse); häufig entsteht auch an der Einstichsstelle ein Infiltrat. Die Tuberkulose pflanzt sich auf dem Lymphwege fort. Es erkrankt in der Regel zunächst die Lumbaldrüse, dann folgen die Milz, die Drüsen an der Porta hepatis, die Leber, die peribronchialen und retrosternalen Lymphdrüsen und die Lungen. Extirpiert man die vergrößerten Kniefaltendrüsen, so findet man, falls sie tuberkulös sind, in Präparaten vom Drüsensaft die Tuberkelbacillen und kann so schon in der zweiten bis dritten Woche nach der Impfung die Diagnose Tuberkulose stellen. Die Drüsenextirpation wird von den Tieren gut ertragen. Das Fortschreiten der Tuberkulose wird dadurch nicht beeinflusst. Mack hat empfohlen, vor Vornahme der subcutanen Impfung die Kniefaltelymphdrüsen zu quetschen, um durch den mechanischen Insult das Eintreten tuberkulöser Veränderungen in ihnen zu beschleunigen. Er gibt folgende Anweisungen: Man faßt die Leistenfalte zwischen Daumen und Zeigefinger und durchstößt einige Male reibend die Leistengegend, immer mit den beiden Fingern von der Tiefe an die Oberfläche gehend. Dabei kommen die Leistenröhren als ganz kleine Knötchen zwischen den reibenden Fingern zur Wahrnehmung und werden durch festes Zedrücken zerquetscht. Bei positivem Ausfall des Versuches kann man 10 bis 14 Tage nach der Impfung in der Inguinalgegend einen etwa bohnen großen Knoten nachweisen. Extirpiert man denselben, so sieht man mehrere vergrößerte Lymphdrüsen in entzündlich infiltriertem Gewebe. In trichpräparaten vom Drüsensaft finden sich meist Tuberkelbacillen. Gelingt ihr Nachweis auf diese Weise nicht, so wird die Drüse vom Fett befreit, fein zerschnitten

und im Morser unter allmählichem Zusatz von 50%igem Antiformin verrieben. Nach Auflösung der Drüsen wird an der Aufschwemmung die doppelte Menge Alkohol zugesetzt und zentrifugiert. Die weitere Behandlung des Sedimentes erfolgt in der bei der Sputumuntersuchung geschilderten Weise.

Sind im Untersuchungsmaterial mikroskopisch zahlreiche Bakterien nachweisbar, so erliegen die gequetschten Meerschweinchen oft vorzeitig der Infektion durch diese Bakterien, während die nicht gequetschten Tiere sie noch überleben. In solchen Fällen muß daher die Quetschung unterbleiben oder man verwendet zur Einspritzung des gequetschten Tieres mit Antiformin (s. n.) behandeltes Sediment. Ferner ist darauf aufmerksam zu machen, daß nicht selten die gequetschten Drüsen schon zwei bis drei Tage nach der Impfung, ohne daß Tuberkulose vorliegt, anschwellen. Diese Drüsen pflegen sich im Laufe der nächsten Tage nicht zu vergrößern, meist bilden sie sich sogar wieder zurück. Mitunter kommt es zur Absceßbildung, dann ist der Eiter auf Tuberkelbacillen zu prüfen. Jedenfalls muß vor zu frühzeitiger Exstirpation der Drüsen gewarnt werden. Es empfiehlt sich, bei jedem Versuch zwei Tiere zu impfen, aber nur bei einem die Quetschung der Drüsen vorzunehmen.

Tötet man die Tiere vier bis fünf Wochen nach der Injektion, so findet man bei der Sektion die Kniefaltendrüsen stark angeschwollen und zentral verästelt, die vergrößerte Milz und die Leber mit zahlreichen miliaren Knötchen durchsetzt, die Lumbal-, Portal- und Bronchialdrüsen vergrößert und oft zentral verästelt, auch in den Lungen sind schon oft zahlreiche graue Knötchen sichtbar. Zur Erhaltung der Diagnose bedarf es stets des Nachweises der Tuberkelbacillen in den Krankheitsprodukten. In den Tuberkelknötchen, die zur Untersuchung zwischen Objektträgern zerquetscht werden, findet man stets nur vereinzelt Bacillen.

Zeigen die Versuchstiere keine Drüsenschwellung, so werden sie sechs Wochen nach der Impfung getötet und sezziert.

VIII Kapitel.

Untersuchung der Sekrete der Geschlechtsorgane.

Harnröhrensekret

Bei der bakteriologischen Untersuchung des Harnröhrensekretes kommt es hauptsächlich auf den Nachweis von Gonokokken an. Urethritis non gonorrhoeica ist selten, als Erreger derselben findet sich am häufigsten *Bact. coli*, aber auch Staphylokokken, grampositive Diplokokken, Streptokokken, diphtheroide Stäbchen werden beobachtet. Diese Mikroorganismen finden sich auch als Erreger postgonorrhoeischer Entzündungen und als mischinfizierende Bakterien bei Gonorrhöe.

Bei akuter Urethritis des Mannes wird das Sekret mittels Platinspatels aus der Harnröhre entnommen und in dünner Schicht gleichmäßig auf dem Deckglas oder Objektträger ausgestrichen. Bei Frauen wird das Sekret der Urethra und der Cervix uteri zur Untersuchung

benutzt. Vaginalsekret ist ungeeignet, da es gewöhnlich große Mengen verschiedenartiger Mikroorganismen enthält, unter denen die Gonokokken nur schwer herauszufinden sind. Außerdem werden die Drüsenmündungen mechanisch ausgedrückt.

Bei der eitrigen Vulvitis kleiner Mädchen gelingt der Nachweis der Krankheitserreger im Vulvasekret sehr leicht. Man findet meist Gonokokken oder *Bact. coli*.

Bei weiblichen Kranken greift die Gonorrhöe häufig auf die Analschleimhaut über. Hier kann das Untersuchungsmaterial entweder mit Platinföse oder durch Spülung des untersten Rectum abgeschnitten mittels doppelläufigen Rohres gewonnen werden. Das Spülwasser wird zentrifugiert und das Sediment gefärbt.

Bei der chronischen Gonorrhöe des Mannes werden der Morgentropfen oder die im Harn sichtbaren Filamente der Untersuchung unterzogen. Die letzteren sind am reichlichsten im ersten Morgenharn nachweisbar. Da sie mit dem ersten Harnstrahl aus der Urethra herausgespült werden und sich in größeren Urinmengen leicht auflösen, läßt man nur eine kleine Menge Harn (etwa die ersten 20 bis 30 cm) zur Untersuchung auffangen. Die Filamente fängt man mittels Pipette möglichst bald nach seiner Entleerung aus dem Urin heraus, da bei längerem Zuvarten die Farbefähigkeit der Gonokokken leidet, und breitet sie auf dem Deckglas aus, ohne sie zu verreiben.

Mikroskopische Untersuchung. Die Ausstrichpräparate werden mit stark verdünnter Methylenblaulösung und nach *Gram* gefärbt. Bei Verwendung stark verdünnter Methylenblaulösungen werden die Kerne nur schwach, die Gonokokken aber sehr intensiv gefärbt. Dadurch treten die Gonokokken besonders deutlich hervor. Die oft benutzte *Löfflersche* Methylenblaulösung ist zur Färbung der Gonokokken viel weniger geeignet, weil sie zu stark färbt. Die zahlreichen Doppelfärbungen (nach *May-Grünwald*, *Pick*, *Jacobsohn*, *Pappenheim*) haben keinen diagnostischen Wert, sie erleichtern allenfalls das Auffinden einzelner Diplokokken. Nach *Pappenheim* färben sich Gonokokken leuchtend rot, die Kerne blaßgrün, das Protoplasma schwach rosa (vgl. Farbrezept). Die Färbungen geben alle nur dann gute Resultate, wenn die Präparate dünn und gleichmäßig ausgestrichen sind.

Die Gonokokken präsentieren sich im gefärbten Präparat als Diplokokken von Semmel- oder Kaffeebohnenform. In der einander zugekehrten Seite haben die Kokken eine charakteristische bilobuläre Ausbuchtung.

tung Sie liegen selten einzeln meist in Gruppen zusammen unregelmäßige Haufen bildend ohne einander zu berühren niemals in Ketten Im eitrigen Ausfluß finden sie sich meist innerhalb der Leukocyten die dann oft mit ihnen vollgepfropft erscheinen (Tafel XV Fig 1)

Im frühesten Stadium der Gonorrhöe, in dem das schleimige Sekret zahlreiche Epithelzellen und wenige Leukocyten enthält liegen die Gonokokken häufig extracellulär sie bedecken dann mitunter die Epithelzellen so dicht daß sie wie damit bepflanzt aussehen. Auch im schleimig-eitrigen Sekret der chronischen Gonorrhöe finden sich die Gonokokken vielfach außerhalb der Zellen.

Von differentialdiagnostischer Bedeutung ist das negative Verhalten der Gonokokken gegenüber der Gramschen Methode. Um sie im Grampräparat deutlich sichtbar zu machen ist zur Nachfärbung Neutralrot (vgl. Kapitel XII) sehr zu empfehlen. Das viel angewandte verdünnte Fuchsin überfärbt leicht und gibt bei etwas stärkerer Entfärbung auch grampositiven Kokken einen roten Farbenton. Bismarckbraun färbt zu schwach Uns hat sich die sogenannte abgekürzte Grammethode (vgl. Kap VII) sehr bewährt Man erhält niederschlagfreie Bilder und nicht so leicht falsche Resultate durch zu starke Entfärbung die bei anderen Methoden immer wieder vorkommen.

Zuchtungsverfahren Die Gonokokken kommen auf gewöhnlichem Agar nicht zur Entwicklung in der ersten Generation allenfalls dann wenn reichlich Eiter ausgestrichen wurde. Zu ihrer Züchtung bedarf es eines Nährbodens mit einem Zusatz von menschlichem Eiweiß in nicht geronnenem Zustande. Das Reaktionsoptimum ist pH 7,3 bis 7,5 das Temperaturoptimum 35 bis 36°

Geeignete Nährböden sind Serumagar und Serumbouillon (ein Teil menschliches Blutserum plus ein bis zwei Teile Agar bzw Traubenzuckerbouillon erst kurz vor dem Gebrauch zu mischen) An Stelle des Blut

serums kann auch Ascitesflüssigkeit verwendet werden. Doch ist der Nährboden bei Asciteszusatz weniger zu verlässig. Die Ascitesflüssigkeit darf keinen zu starken Alkaleszenzgrad aufweisen und muß einen genügend hohen Eiweißgehalt besitzen. Bessere Wachstumsbedingungen bieten den Gonokokken Agar mit Zusatz von 5 bis 10% menschlichem Blut und vor allem Levinthalagar und Levinthalbouillon die mit menschlichem Blut hergestellt sind und eine Alkaleszenz von 7.3 bis 7.5 p_H besitzen.

Mit dem Sekret werden Strichkulturen angelegt indem man mit einer Öse Elter mehrere nebeneinander liegende Striche über die Oberfläche des Nährbodens zieht. Die Gonokokkenkolonien sind dann am Rande der Striche nachweisbar. Filamente werden kurz in steriler physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen und auf der Oberfläche des Nährbodens ausgebreitet. Sind mikroskopisch keine oder nur wenige Gonokokken nachweisbar so empfiehlt sich das Anlegen einer Vorkultur auf flüssigem Nährboden zur Anreicherung der Keime. Als Nährboden dienen Serum bzw. Ascitesbouillon (1. 2) oder Levinthalbouillon hergestellt mit Menschenblut.

Aussehen der Kulturen. Nach 24stündigem Wachstum bei 36° zeigen sich kreisrunde leicht grau gefärbte durchscheinende Kolonien von eigentümlich zäh schleimiger Konsistenz. Ihr Rand ist fast immer eigenartig wellig und zackig begrenzt. Benachbarte Kolonien konfluieren. In ihrem Aussehen gleichen sie am meisten denen der Streptokokken. Während sie auf Ascitesagar nur die Größe eines kleinen Stecknadelkopfes aufweisen erreichen sie auf Blut und Levinthalagar in 3 bis 4 Tagen einen Durchmesser von mehreren Millimetern. Auf Ascitesagar erscheinen die Kolonien flach auf Levinthalagar von vornherein gewölbt. Charakteristisch sind in Präparaten aus Kulturen die zahlreichen Degenerationsformen die sich bereits in 24 Stunden alten Kolonien neben typisch gestalteten Diplokokken finden. Die Degenerationsformen erscheinen aufgequollen und sind schlecht färbbar.

In Serumbouillon wachsen die Gonokokken an der Oberfläche als feinkrümelige Masse die allmählich zu Boden sinkt ohne die Flüssigkeit zu trüben. Die Kulturen sind wenig haltbar sie müssen anfangs täglich später alle drei bis vier Tage auf einen neuen Nährboden überimpft werden. Es empfiehlt sich Stichkulturen im Serum oder Ascitesagar anzulegen.

Nach den Verfahren von *Unger*mann sowie *Buschke* und *Langer* gelingt es, Kulturen zu erhalten, die lange Zeit abimpfbar bleiben. Nach *Unger*mann dient als Nährboden reines oder mit Kochsalzlösung verdünntes Kaninchenserum das in kleine Röhrchen (Präcipitationsröhrchen) gefüllt $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad von 60° erhitzt und sofort mit 1 bis 2 cm³ sterilen, flüssigen Paraffin überschichtet wird. *Buschke* und *Langer* verwenden 2 bis 3 cm³ menschlichen Serums an Stelle des Kaninchensserums und impfen nicht nur mit Kulturen, sondern auch mit Trippererregern. Die Impfung und Weiterimpfung geschieht nicht mit der Öse sondern mit Capillare durch die Paraffinschicht hindurch.

Differentialdiagnose Bei der Untersuchung von Sekreten die aus den Genitalien stammen sind die morphologischen und tinktoriellen Eigenschaften der Gonokokken ausreichend um die Diagnose mit Sicherheit zu stellen. Die den Gonokokken eigentümliche Form ihre charakteristische Lagerung ihre Entfärbbarkeit nach *Gram* ermöglichen hier meist ohne weiteres ihre Differenzierung von anderen Eiterkokken. In Fällen chronischer Gonorrhoe in denen nur wenige vereinzelt liegende gram negative Diplokokken gefunden werden kann zur Differentialdiagnose das Zuchtungsverfahren herangezogen werden. Es empfiehlt sich dann außer auf dem Serumnährboden auch Ausstriche auf gewöhnlichem Agar zu machen weil gerade der negative Ausfall des Zuchtungsverfahrens auf letzterem für die Diagnose wertvoll ist. Leider versagt hier häufig das Kulturverfahren. Auch in Fällen chronischer Urethritis in denen mikroskopisch keine Gonokokken nachweisbar sind gelingt ihre Züchtung häufig nicht. Man wird sich in der Praxis daher in der Regel auf eine gründliche möglichst oft zu wiederholende mikroskopische Untersuchung eventuell unter Zuhilfenahme der provokativen Reizung beschränken müssen. Es ist vor

allen auf die Zusammensetzung der Filamente zu achten. Solange diese aus Leukocyten bestehen liegt der Verdacht vor, daß die Entzündung von Gonokokken unterhalten wird, die aus den versteckten Herden (Prostata, Ausführungsgänge der Littreschen und Cooperschen Drüsen) in denen sie ihren Sitz haben nicht herausgeschwemmt werden. Erst wenn sich bei wiederholten Untersuchungen Filamente finden, die nur oder vorwiegend aus Epithelzellen zusammengesetzt sind, ist eine Heilung des Leidens wahrscheinlich.

Bei chronischer Gonorrhöe und postgonorrhöischen Entzündungen werden häufig grampositive Kokken verschiedener Art gefunden, darunter auch Diplokokken, die in Form und Lagerung Gonokokken gleichen und nur durch Gramfärbung von ihnen sicher zu unterscheiden sind. Bei der kulturellen Untersuchung kommen häufig Streptokokken zur Entwicklung.

Kulturversuche sind unentbehrlich um bei extragenitalen Erkrankungen Gonokokken zu identifizieren. Hier kommen besonders *Micrococcus catarrhalis* und die Meningokokken differentialdiagnostisch in Betracht (vgl. Seite 16 und 17).

Widmer ist es erforderlich, ein Präparat, das verdächtige Kokken enthält (z. B. bei der Untersuchung von Filamenten) nach der Gramschen Methode umzufärben. Man geht dabei so vor, daß man das Präparat zunächst zur Entfernung des Ausdahlbalsams und Cedernholzöles mit Xylol behandelt, letzteres mit absolutem Alkohol entfernt, dann mit Wasser abspült, in 3%igem Salzsäurealkohol entfarbt und nach abermaliger Wasserabspülung nach Gram färbt.

Über die Complementbindungsreaktion und Diagnose der Gonorrhoe siehe S. 442.

Prostatasekret

Das Prostatasekret wird durch Massage der Prostata nach vorangegangener Ausspülung der vorderen Harnröhre gewonnen und in steriler Petrischale aufgefangen. Die Untersuchung erfolgt nach der oben beschriebenen Methode.

Uterussekret

Das Uterussekret wird mit steriler Tupfersonde nicht zu weicher Platinöse oder mit ganz feinem stumpfen Löffel zur Untersuchung aus dem Cervicalkanal entnommen. Der Nachweis der Gonokokken geschieht nach der vorher geschilderten Methode. Zum Nachweis von Streptokokken empfiehlt sich der Ausstrich auf Blutagar nach *Schottmüller* und Impfung auf Ascitesagar und in Ascitestraubenzuckerbouillon. Zur Züchtung der bei septischen Aborten gefundenen anaerob wachsenden Bakterien vor allem *Streptococcus putridus* und *Bacillus Welch Fränkel* werden nach einer der in Kapitel XII geschilderten Methoden anaerobe Kulturen auf Blutagar angelegt. Seltener werden als Entzündungserreger im Uterussekret *Staphylokokken* und *Bacterium coli* gefunden.

Als häufiger Erreger des Weißflusses kommen die *Trichomonaden* in Betracht (*Trichomonas vaginalis*). *Redewitz* behauptet sogar daß 88% aller Ausflüsse auf Infektion mit *Trichomonaden* beruhen. Die einfachste Methode des Nachweises der *Trichomonas vaginalis* ist die Untersuchung eines mit der Öse entnommenen Eitertröpfens im Dunkelfeld. Die Geißelbewegungen dieser Protozoen erleichtern das Auffinden auch wenn sie in geringer Zahl vorhanden und durch Leukocyten und Epithelzellen bedeckt sind. Zur Herstellung von Trockenpräparaten eignet sich am besten die Giemsa Färbung obwohl die Geißeln nicht besonders gut anfärbbar sind.

Spermaflüssigkeit.

Die Untersuchung der Samenflüssigkeit wird in erster Linie zur Feststellung der Zeugungsfähigkeit des Mannes vorgenommen. Die Kinderlosigkeit vieler Ehen ist durch die Azoospermie des Mannes bedingt; daher muß der Frauenarzt, bevor er sich zum operativen Eingriff der die Beseitigung der Sterilität der Frau bezweckt, entscheidet, zunächst das Sperma des Mannes untersuchen lassen. Durch die mikroskopische Untersuchung kann ferner festgestellt werden, ob eine Sekretion aus der Harnröhre eine Spermatorrhoe darstellt oder nur eine Absonderung aus der Urethra oder Prostata. Bei Kindern soll die Untersuchung der Flecke auf der Wäsche entscheiden ob Masturbation vorliegt. Schließlich wird auch

für forensische Zwecke die Untersuchung von Flecken auf Wäsche und Kleiderstücken vorgenommen, um festzustellen, ob diese Flecke durch Sperma, Eiter, Schleim, Blut oder Harn entstanden sind.

Das Sperma ist eine weißliche dickflüssige ziemlich zähe Flüssigkeit. Sie bildet sich hauptsächlich aus den Sekreten der Hoden und der Samenbläschen mit Beimischung von Prostatasekret und Sekreten der *Cooperschen* *Littreschen* Drüsen sowie der Drüsen der Harnröhrenschleimhaut. Ein frisch hergestelltes Präparat der Samenflüssigkeit enthält folgende Formelemente:

Spermatozoen (Samenfäden) Diese Gebilde sind sehr charakteristisch und bilden den wesentlichsten Bestandteil der Spermaflüssigkeit durch ihre Anwesenheit läßt sich das Sperma von jeder anderen Flüssigkeit differenzieren. Sie bestehen aus einem abgeflachten birnenförmigen Kopf, einem mittleren dünnen Teil (Hals) und einem sehr dünnen geißelförmigen Schwanz. In den nach *Leishmann* gefärbten Präparaten zeigt das Kopfstück ein basophiles bläschenförmiges Gebilde, das gegen das Kopfende und den Hals scharf abgegrenzt ist, der Schwanz ist acidophil.

Bei Spermatorrhöe findet man zuweilen (besonders bei langem Bestehen des Leidens) Veränderungen an den Samenfäden, die auf Unterteilung dieser Formelemente hindeuten. Man findet Halskrausen, Membranreste und schwache Beweglichkeit der Samenfäden. Die normalen Spermatozoen bewegen sich durch Hin- und Herschlagen des Schwanzes so, daß sie in einer Minute das 400fache ihrer Körperlänge vorwärtskommen. Die Spermatozoen behalten ihre Bewegungsfähigkeit viele Stunden nach der Entleerung, wenn das Sperma bei Körpertemperatur aufbewahrt wird. Sind die Spermatozoen in frischem Sperma unbeweglich oder die Beweglichkeit erlosch einige Minuten nach der Entleerung, so handelt es sich um Nekrospermie. Männer, die derartige Sperma entleeren, sind zeugungsunfähig. Das vollständige Fehlen von Spermatozoen — Azoospermie — wird als physiologische Erscheinung im Greisenalter beobachtet.

Eine Verminderung der Zahl der Samenfäden (Oligospermie) wird als vorübergehender Zustand nach übermäßigen Spermaverlusten oder unter dem Einfluß von allgemeinen konstitutionellen Erkrankungen z. B. Tuberkulose beobachtet.

Als Aspermatismus bezeichnet man den Zustand, wo bei mehr oder weniger normaler Produktion des Samens die Ejakulation beim Coitus verhindert ist.

Außer den Spermatozoen finden sich in der Samenflüssigkeit noch folgende Elemente: a) Einkernige, fein granulierte Zellen aus den Hoden sowie vereinzelte Zylinder und Plattenepithelien aus den ableitenden Samenwegen. b) Vereinzelte Leukocyten. c) Hodenzylinder. d) Leucin tropfen aus dem Prostatasekret. e) Prostatakörperchen (Corpora amylacea) — nur nach wiederholtem Coitus. f) Spermakristalle (Boltchers Kristalle). Diese Kristalle scheiden sich gewöhnlich erst nachträglich aus, aber beiweitem nicht aus jeder Samenflüssigkeit. Ihre Ausscheidung kann durch Zusatz einer 1%igen Lösung von saurem phosphorsaurem Ammon beschleunigt werden. Nach Form und chemischer Zusammensetzung zeigen die Spermakristalle eine Ähnlichkeit mit den Charcot-Leydenschens Kristallen; sie sind jedoch höchstwahrscheinlich mit diesen nicht identisch.

Methodik. Zur Feststellung der Zeugungsfähigkeit muß frisch entleertes Material untersucht werden. Man läßt am besten den Samen in den Morgenstunden in ein Präservativ entleeren und körperwarm bis zur Untersuchung aufbewahren. Die Spermatozoen behalten ihre Beweglichkeit bei Körpertemperatur viele Stunden lang. Es wird nur ein natives Präparat hergestellt und bei mittlerer Vergrößerung (300- bis 400fach) untersucht.

Die Untersuchung von Wäsche- oder Kleiderflecken geschieht in folgender Weise. Die befleckten Stellen werden mit einer Schere ausgeschnitten in kleine Stückchen zerschnitten und in einem kleinen Glasgefäß (Schale oder Spitzgläschen) mit physiologischer Kochsalzlösung über

gossen und einige Stunden stehengelassen sind auf dem Wäsche- bzw. Kleidungsstück viele Flecke verschiedener Art vorhanden so werden diejenigen untersucht die fester wie gestärkt erscheinen. Die gut in der Flüssigkeit eingeweichten Stoffstückchen werden mit einem Glasstab angedrückt. Man rührt die Flüssigkeit gut durch gießt sie in ein Zentrifugenröhrchen und zentrifugiert. Man gießt die Flüssigkeit ab und untersucht das Sediment mikroskopisch. Auch die im Schälchen bzw. Spitzgläschen zurückgebliebenen Stoffreste werden zerzupft und untersucht. Sind im ungefärbten Präparat Spermatozoen nicht nachweisbar so werden gefärbte Präparate hergestellt (nach *Leishman*).

Schon der Nachweis eines einzigen Samenfadens genügt um festzustellen daß der Fleck zweifellos von Samen herrührt. Elemente die eine Ähnlichkeit mit den Köpfen von Spermatozoen zeigen können nicht für die Diagnose verwertet werden. Die Spermatozoen sind sehr widerstandsfähig und behalten jahrelang ihre Form in dem ausgetrockneten Material. Für gerichtliche medizinische Zwecke kann es wichtig sein in den Flecken glykogenhaltige Plattenepithelien aus der Scheide nachzuweisen. Man benutzt hierzu eine verdünnte *Lugol*sche Lösung (0.2 Jod 0.3 Jodkalium 10.0 Aqua dest.) Die Epithelien nehmen eine schokolade- bis terrakotta-braune Farbe an.

Fällt die mikroskopische Untersuchung des Fleckes auf Spermatozoen negativ aus so ist dadurch noch nicht entschieden daß der Fleck nicht von Sperma herrührt da es sich um eine Azoospermie handeln kann. Es ist in diesen Fällen ratsam eine mikrochemische Reaktion anzuwenden die für den Samen charakteristisch sein soll. Von den vielen zu diesem Zweck empfohlenen Reaktionen ist die von *Florence* angegebene die beste. Sie ist auch als Vorprobe bei der Auswahl der mikroskopisch zu untersuchenden Flecke sehr zu empfehlen. Das Reagens von *Florence* besteht aus einer konzentrierten Jod-Jodkali-Lösung (Jod 2.04 Jodkali 1.60 destilliertes Wasser 30.0).

Aus dem Flecke wird ein möglichst konzentrierter wässriger Auszug hergestellt einen Tropfen dieses Auszuges bringt man auf einen Objektträger setzt nebenan einen Tropfen des *Floresceschen* Reagens und bedeckt beide Tropfen mit einem Deckglas, an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten scheiden sich sofort braune rhombische Kristalle von verschiedener Größe aus. *Florence* nahm an daß diese Reaktion spezifisch ist es hat sich aber gezeigt daß auch andere Körperflüssigkeiten in gleicher Weise reagieren. Die ausgeschiedenen Kristalle sind nämlich keine Jodverbindungen von Spermin wie früher angenommen wurde sondern Jodkristalle, deren Ausscheidung durch Cholin (Zersetzungsprodukt des *Lexithins*) bewirkt wird. Der positive Ausfall der *Floresceschen* Reaktion spricht also nicht mit absoluter Sicherheit für das Vorhandensein von Sperma sondern nur dafür daß es möglicherweise sich um Sperma handeln kann. Das negative Resultat schließt die Anwesenheit von Sperma nicht aus.

Bei der bakteriologischen Untersuchung des Spermas kommen hauptsächlich Gonokokken und Tuberkelbacillen in Frage. In seltenen Fällen finden sich Staphylokokken Streptokokken Colibacillen Proteus Pneumokokken Mikrooccus catarrhalis die sowohl als selbstständige Krankheitserreger als auch als mischinfizierende Bakterien auftreten können.

Der Nachweis von Gonokokken gelingt in akuten Fällen mikroskopisch in chronischen Fällen ist die kulturelle Untersuchung erforderlich. Nicht selten gelingt es noch aus dem Sperma Gonokokken zu züchten wenn die Untersuchung der Filamente und des Prostatasekrets negativ ausfällt.

Zum Nachweis von Tuberkelbacillen sind in der Regel kulturelle Untersuchung und Tierversuch erforderlich.

Die Frauenmilch

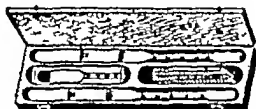
Für die klinische Praxis kommen folgende Bestimmungen in Frage 1 Reaktion 2 spezifisches Gewicht

3 Fettgehalt 4 Milchzuckergehalt 5 Eiweißgehalt
6. mikroskopische Untersuchung 7 Unterscheidung von
Kuh bzw Ziegenmilch

Die Reaktion und das spezifische Gewicht werden in derselben Weise wie bei der Harnuntersuchung festgestellt. Normale Milch zeigt eine schwach alkalische oder amphotere Reaktion. Das spezifische Gewicht schwankt um 1030

Die Bestimmung des Fettgehaltes wird am einfachsten mit dem Lactobutyrometer von *Marchand* ausgeführt. Das Lactobutyrometer (Fig 36)

Fig 36



besteht aus einer etwa 25 cm langen Röhre die in der oberen Hälfte eine etwa 8 cm lange Glaschaurung zeigt. Es trägt folgende Marken *M* & *A*. Der verjüngte Teil ist durch eng aneinanderliegende Striche eingeteilt. Die Bestimmung beruht darauf daß das Fett durch Schütteln der Milch mit Alkohol und Äther extrahiert wird und die abgesonderte ätherische Fettlösung volumetrisch abgelesen wird.

Man bringt in die Röhre zunächst die gut durch gemischte Milch bis zur Marke *M* hierauf einen Tropfen 10%ige Natronlauge rührt um und setzt Äther bis zur Marke *A* zu und schüttelt kraftig so lange bis das ganze eine gleichmäßige Masse bildet und der Äther nach einigem Stehen sich nicht mehr von der Milch trennt. Hierauf wird Alkohol (96%iger) bis zur Marke *A* hinzugefügt und abermals kraftig geschüttelt. Wenn jetzt die Röhre in ein mit

Wasser von 40° C gefüllten Zylinder gebracht wird sammelt sich in kurzer Zeit das Fett in Form einer ätherhaltigen Ölschicht über der Flüssigkeit an. Das ausgeschiedene Casein setzt sich am Boden der Röhre ab. Aus der Höhe der Fettschicht die man nach der Zahl der Teilstriche feststellt findet man in der Tabelle den Fettgehalt in Prozenten. Der Fettgehalt der normalen Milch beträgt etwa 3 0%.

Fettbestimmung in der Milch mit Marchands Lactobutyrometer

Atherfett lösung Teilstriche	Fett	Atherfett lösung Teilstriche	Fett %	Atherfett lösung Teilstriche	Fett %
1.0	1.339	10.0	3.175	19.0	8.308
1.5	1.441	10.5	3.277	19.5	8.485
2.0	1.543	11.0	3.379	20.0	8.660
2.5	1.645	11.5	3.481	20.5	8.837
3.0	1.747	12.0	3.583	21.0	9.020
3.5	1.849	12.5	3.685	21.5	9.209
4.0	1.951	13.0	3.787	22.0	9.398
4.5	2.053	13.5	3.889	22.5	9.587
5.0	2.155	14.0	3.991	23.0	9.781
5.5	2.257	14.5	4.093	23.5	9.975
6.0	2.359	15.0	4.195	24.0	10.169
6.5	2.461	15.5	4.297	24.5	10.363
7.0	2.563	16.0	4.399	25.0	10.557
7.5	2.665	16.5	4.501	25.5	10.751
8.0	2.767	17.0	4.603	26.0	10.945
8.5	2.869	17.5	4.705	26.5	11.139
9.0	2.971	18.0	4.807	27.0	11.333
9.5	3.073	18.5	4.909	27.5	11.527

Bestimmung des Milchruckers.

Der Milchrucker wird am einfachsten durch Polarisation bestimmt. Nach *Salkowski* versetzt man 15 cm³ Milch in einem graduirten, gut verschließbaren Zylinder mit 5.25 g Ammonsulfat, schüttelt kräftig durch, damit das Ammonsulfat aufgelöst wird. Hierauf setzt man gesättigte Ammonsulfatlösung bis auf 50 cm³ hinzu, mischt durch und filtriert durch einen trockenen Filter. Das klare Filtrat wird polarisiert. Die abgelesene Rechtsdrehung wird mit 1.89 multipliziert.

Der Milchruckergehalt der normalen Frauenmilch beträgt 5.0%.

Die Bestimmung des Eiweißes.

Die Bestimmung des Eiweißes (Casein + Albumin) kann mittels der Mikrokfeldmethode ausgeführt werden. Man verdünnt die Milch 100fach. Von dieser Verdünnung bringt man 2,5 cm³ in den Mikrokfeldkollben setzt Schwefelsäure Kaliumsulfat und Kupfersulfatlösung in den selben Mengen hinzu wie bei der Reststickstoffbestimmung nach der kolorimetrischen Mikromethode von Kowarski (vgl. S. 311) und verfährt weiter in der bei dieser Methode vorgeschriebenen Weise. Bei der Berechnung muß berücksichtigt werden, daß hier zur Untersuchung eine zehnmal kleinere Menge Flüssigkeit angewandt wurde im Vergleich zur Blutmenge; es muß dementsprechend bei Farbgleichheit nicht 40 mg%, sondern 400 mg% angenommen werden. Die gefundene Stickstoffmenge muß dann mit 6,35 multipliziert werden. Man erhält dann den Eiweißgehalt (normal 1,5%).

Mikroskopische Untersuchung

Vom dritten Schwangerschaftsmonat an beginnt in der Brustdrüse der Frau die Bildung eines Sekretes das eine trübe, weißliche Flüssigkeit darstellt und durch Druck auf die Drüse in geringer Menge zum Vorschein kommt. Dieses sogenannte Colostrum zeigt bei der mikroskopischen Untersuchung folgende morphologische Elemente

- 1 Fettkügelchen von verschiedener Größe von kaum sichtbarem Punkt bis 10 bis 12 Mikren und mehr. Sie sind meist in Haufen gelagert.
- 2 Colostrumkörperchen große körnige fettig degenerierte Zellen die Zahl der Fetttropfen im Protoplasma dieser Zellen ist so groß sie liegen so dicht nebeneinander daß der Kern der Zelle vollständig verdeckt und unsichtbar ist. Im Lugol Präparat färbt sich das Protoplasma des Colostrumkörperchens gelb die Fetttropfen bleiben ungefärbt. Nach der Entbindung vermindert sich die Zahl der Colostrumkörperchen ziemlich rapid um nach acht bis zehn Tagen vollständig aus der Milch zu verschwinden. Normale einwandfreie Frauenmilch enthält keine Colostrumkörperchen.
- 3 Leukocyten in geringer Zahl
- 4 Einzelne Epithelien aus den Ausführungsgängen der Brustdrüse

Die mikroskopische Untersuchung der Frauenmilch wird vorgenommen um festzustellen ob pathologische Formelemente und pathogene Keime vorhanden sind.

Das mikroskopische Bild der normalen Frauenmilch wird beherrscht durch Fettkügelchen die annähernd von gleicher Größe — 2 bis 5 Mikren — sind. Im Zentrifugat findet man nur einzelne Leukocyten keine roten Blutkörperchen keine Colostrumkörperchen. Bei Entzündungsprozessen in der Drüse (Mastitis) findet man reichlich Leukocyten diese sind entweder von normaler Beschaffenheit oder sie enthalten phagozytierte Fetttropfen. Am besten sieht man die Leukocyten im *Lugol* Präparat. Auch Blutbeimischung wird bei der mikroskopischen Untersuchung nicht selten gefunden. Von Mikroorganismen kommen hauptsächlich Entererreger und Tuberkelbacillen in Betracht.

Methodik. Sowohl aus der unverdünnten Milch wie aus dem Zentrifugat werden je ein natives und *Lugol*-Präparat (ein Tropfen Milch + ein Tropfen *Lugol*scher Lösung) hergestellt. Man untersucht mit mittlerer Vergrößerung (*Leitz*-Objektiv 7)

Zur Untersuchung auf Bakterien werden gefärbte Präparate (*Gram* und *Tbc.* Präparat) aus dem Sediment und der Fettschicht des Zentrifugats hergestellt. Zur einwandfreien Feststellung von Tuberkelbacillen in der Milch ist die Anstellung eines Tierversuches unerlässlich.

Für die Säuglingsernährung in Anstalten ist die Unterscheidung von Frauenmilch und Kuhmilch bzw. Ziegenmilch von großem praktischem Werte da die Ammen ihre abgezogene Milch mitunter mit Kuhmilch und Ziegenmilch verfälschen. Folgende einfache Farbenreaktionen sind für diesen Zweck angegeben worden

1 *Jacobis* Reaktion 1 cm³ Milch wird mit 1 cm³ konzentrierter Schwefelsäure versetzt und umgerührt. Frauenmilch gibt eine braune Färbung. Kuhmilch eine

violette. Diese Reaktion entdeckt schon 10% Beimischung von Kuhmilch zu Frauenmilch

2 Reaktion von Moro 5 cm³ Milch versetzt man mit zwei Tropfen einer 1%igen Lösung von Neutralrot in physiologischer Kochsalzlösung. Kuhmilch gibt eine rotviolette frische Frauenmilch eine gelbe Färbung. Ziegenmilch verhält sich wie Kuhmilch.

3 Eine mikroskopische Probe ist neuerdings von Kurowa und Konishi empfohlen worden. Die Nilblaumethode. Man bringt einen Tropfen Milch auf einen Objektträger, darauf einen Tropfen Nilblausulfat (1%ige Lösung des Grublerschen Präparates), vermischt gut und verschließt luftdicht. Es wird mikroskopisch die Farbe der Milchkügelchen festgestellt. Sie hängt zum Teil von der Laktationsperiode ab (allgemein färben sich die Kügelchen der Frauenmilch orange-rot, je nach der Laktationsperiode mehr rötlich oder mehr gelblich). Die Kügelchen der frischen oder gekochten Kuhmilch färben sich nicht oder ganz schwach blaßgelb oder blaßblau. Vermischt man getrocknete Kuhmilch mit physiologischer Kochsalzlösung und hierauf mit Nilblausulfat, so färben sich die Kügelchen tiefblau. Ziegenmilch zeigt ein ähnliches Verhalten.

Anhang I

Zur Methodik der funktionellen Nierendiagnostik

Die Prüfung der Nierenfunktion wird für klinische Zwecke nach zwei Richtungen ausgeführt

1 Bei doppelseitigen Nierenkrankungen wird die Leistungsfähigkeit der Nieren entweder durch Einführung körperfremder Stoffe oder durch Belastung mit körpereigenen Substanzen. Außerdem kommen auch Blutuntersuchungen in Frage. In der klinischen Praxis haben sich folgende Proben bewährt

a) Die Indigokarminprobe. Man injiziert dem Patienten intramuskulär 20 cm³ 0,1%ige Lösung des

Farbstoffes in physiologischer Kochsalzlösung Normal beginnt die Ausscheidung des Farbstoffes nach fünf bis zehn Minuten nach 15 bis 20 Minuten erreicht die Färbung schon bedeutende Intensität (tiefblau) Bei Krankheiten der Niere kann der Beginn sich verzögern die Intensität der Farbe herabgesetzt sein oder eine Färbung fehlen. Sie kann auch intermittierend auftreten

b) Jodkaliprobe Der Patient erhält 0,5 g Jodkali per os der gesunde Mensch scheidet diese Menge innerhalb 40 bis 60 Stunden Bei Nierenkranken ist die Ausscheidung verlängert. (Über den Nachweis von Jod im Harn vgl S 203)

c) Prüfung durch den Wasserversuch und Trockendiät Der Patient erhält früh morgens im Laufe einer halben bis einer Stunde 1500 cm^3 Wasser und für den übrigen Tag nur Trockenkost. Man verfolgt im Laufe der ersten vier Stunden halbstündlich die Ausscheidung und zwar Menge und spezifisches Gewicht. Der Gesunde scheidet die gesamte Menge in vier Stunden wieder aus, dabei sind die einzelnen Halbstundenportionen sehr verschieden die größte beträgt 500 cm^3 oder mehr das spezifische Gewicht sinkt bis auf 1001 herab Der Wasserversuch ist kontraindiziert bei Herzschwäche, akuter Nephritis Neigung zu Asthma cardiale und zu Pseudourämie

Bei gewissen Nierenkrankheiten ist die Wasserausscheidung verlangsamt und verschleppt es werden in den ersten vier Stunden nur einige hundert Kubikzentimeter ausgeschieden wobei das spezifische Gewicht nur wenig verändert ist. Im Laufe des übrigen Tages (bei Trockenkost) sinkt beim Normalen die Harnmenge auf 300 bis 400 cm^3 und das spezifische Gewicht steigt auf 1025 bis 1030 und höher Bei kranken Nieren ist auch die Konzentrationsfähigkeit oft gestört.

d) Kochsalzversuch. Man untersucht mehrere Tage bei bestimmter Diät deren Kochsalzgehalt bekannt ist die Ausscheidung durch den Harn. Sobald der Kranke

sich im Kochsalzgleichgewicht befindet wird eine einmalige Znlage von 10 g Kochsalz gegeben und die Ausscheidung verfolgt. In vereinfachter Weise wird der Kochsalzversuch so ausgeführt, daß er mit dem Wasserversuch vereinigt wird: man gibt zusammen mit 1500 cm³ Wasser 10 bis 15 g NaCl. Nach vier Stunden werden 50 bis 100^o des Kochsalzes in der Norm ausgeschieden, der Rest nach 24 Stunden. (Die Kochsalzbestimmung im Harn wird nach der *Mokrschen* Methode ausgeführt vgl. Seite 291.)

e) Bestimmung der Stickstoffausscheidung. Bei gleichbleibender Diät, deren Stickstoffgehalt bekannt ist, wird die mittlere tägliche N-Ausscheidung durch Kjeldahlbestimmungen festgestellt. Hierauf erhält der Patient 20 g Harnstoff (= 9,3 g N). In der Norm wird diese Menge im Laufe von zwei Tagen ausgeschieden (erster Tag 7 bis 8 g, zweiter Tag 1 bis 2 g).

f) Bestimmung der Reststickstoffretention. Es wird der Reststickstoff im Blut bestimmt. Normal 25 bis 50 mg in 100 g Serum bei Nierenkrankheiten mit Retention 60 bis 200 mg.

g) Die Vermehrung der Blutharnsäure ist ein empfindliches und fruhauftretendes Zeichen einer Niereninsuffizienz. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß diese Vermehrung auch bei Gicht, Leukämie, fieberhaften Erkrankungen, bösartigen Tumoren und überhaupt bei allen Zuständen, die mit starkem Kernzerfall einhergehen beobachtet wird.

h) Prüfung der Alkalisausscheidung. Die normale Niere scheidet per os zugeführt, Alkali schnell aus, während die insuffiziente dies Fähigkeit ganz oder zum Teil verliert. Nach Entleerung der Blase nimmt der Patient 1 g Natriumbicarbonicum in 100 cm³ Wasser ein. Man sammelt den Harn in Abständen von 15 bis 30 Minuten. In der Norm reagiert der nach ein bis zwei Stunden gesessene Harn schon alkalisch (Probe mit Litmus oder Indolphtalein).

1) Die Xanthoproteinreaktion nach *Becker*. Durch diese Reaktion werden hauptsächlich aromatische Aminosäuren und Oxy-säuren bestimmt.

Ausführung: Man versetzt zur Entweißung 3 cm³ Serum mit einer gleichen Menge 20%iger Trichloressigsäure, zentrifugiert oder filtriert, kocht 2 cm³ der entweißten Flüssigkeit im Reagenzglas mit 0.5 cm³ konzentrierter, reiner Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1.4) eine halbe Minute über der Flamme, kühlt unter der Wasserleitung ab und fügt 1.5 cm³ 33%iger Natronlauge hinzu. Die Flüssigkeit wird in einem engen kleinen Meßzylinder auf 4 cm³ aufgefüllt und nach etwa zehn Minuten kolorimetriert. Als Vergleichsflüssigkeit für den *Autenrieth'schen* Kolorimeter dient eine 0.08874%ige Dichromatlösung (zehnfache Verdünnung einer 0.8874%igen Lösung). Die Kolorimetrie soll im Tageslicht ausgeführt werden. Wenn die Färbung der Xanthoproteinprobe stärker ausfällt als die der Vergleichslösung, so muß die Probe statt auf 4 auf 8 oder 12 cm³ mit Wasser aufgefüllt werden. Man subtrahiert den abgelesenen Wert von 100. Normale Sera zeigen im *Autenrieth'schen* Kolorimeter Zahlen, die zwischen 20 und 80 der Skala liegen, bei Niereninsuffizienz findet man je nach dem Grad viel höhere Werte — bis über 100 Teilungen der Skala. Aromatische Arzneimittel (Salzylpräparate usw.) dürfen vor der Untersuchung nicht eingegeben werden.

2. Bei einseitigen Erkrankungen der Niere (hauptsächlich Tuberkulose Tumoren) handelt es sich in erster Linie um die Feststellung, welche von beiden Nieren erkrankt ist, ferner um die nähere Bestimmung der Art und eventuell des Grades der Erkrankung. In diesen Fällen wird der Harn jeder Niere getrennt mittels Ureterenkatheterisation aufgefangen. Unter normalen Verhältnissen liefern beide Nieren in der gleichen Zeiteinheit einen Harn von derselben Beschaffenheit. Bei einseitigen Erkrankungen wird der Harn der kranken Seite in seiner chemischen, physikalischen und morphologischen Beschaffenheit mehr oder weniger ausgesprochene Veränderungen zeigen. Von körperfremden Substanzen werden vor der Ureterenkatheterisation entweder Farbstoffe oder Phloridzin eingespritzt. Die Farbstoffe werden durch die kranke Niere entweder gar nicht oder schwächer als durch die gesunde Niere ausgeschieden. Phloridzin bewirkt eine Zuckerausscheidung, die von der Menge des gesunden Nierenepithels abhängig ist und daher ebenfalls stärker auf der gesunden Seite ausgesprochen ist.

Bei dem durch Ureterenkatheterisation gewonnenen Harn kommen folgende Bestimmungen in Betracht:

Ein zweiter Tropfen wird zu Ausstrichpräparaten verwandt (Färbung auf Tuberkelbacillen und anderen Bakterien). Ist die Sedimentmenge sehr gering, so lassen sich auch aus dem ersten Tropfen Ausstrichpräparate anfertigen. Der Rest des Sedimentes kann zum Tierversuch und Anlegen von Kulturen verbraucht werden. Für den Tierversuch schwimmt man das Sediment in 1.0 cm^3 Bouillon auf und spritzt zwei Meerschweinchen je 0.5 cm^3 subcutan ein.

Zu den praktischen Methoden der funktionellen Nierendiagnostik gehört auch die *Diastasebestimmung im Harn nach Wohlgemuth*, die auch mit geringen Harnmengen ausgeführt werden kann. Sie beruht darauf, daß die kranke Niere weniger Diastase ausscheidet als die gesunde.

Ausführung: Zwei Reihen mit je 12 nummerierten Reagensgläsern werden mit absteigenden Mengen Urin jeder Niere beschickt. In das erste Reagensglas bringt man 2 cm^3 Urin in die elf übrigen je 1.0 cm^3 1% Kochsalzlösung. Hierauf nimmt man aus den ersten Reagensglas 1.0 cm^3 und bringt ihn in das zweite, rührt um, aus dem zweiten 1.0 cm^3 in das dritte usw. die aus dem letzten Reagensglas entnommene Flüssigkeit wird weggegossen und nun werden zu jedem Gläschen 2 cm^3 einer 1%igen Stärkelösung hinzugefügt. (Die Stärkelösung wird durch Auflösen von *Kahlbanscher* löslicher Stärke auf dem Wasserbad hergestellt). Jetzt kommen sämtliche Röhrchen in ein Wasserbad von 38°C und bleiben darin 30 Minuten. Nach Ablauf der Frist werden die Röhrchen auf ein paar Minuten in kaltes Wasser gebracht. Hierauf setzt man zu jedem Reagensglas ein bis drei Tropfen $\frac{1}{100}$ n Jodlösung zu und rührt den Inhalt um. Diejenigen Röhrchen, die vollständig abgebaute Stärke enthalten, nehmen nach Jodzusatz eine gelbe bzw. rotbraune Farbe an, während die unveränderte Stärke enthaltenden blaurot oder blau werden. Das erste in der Reihe blaurot gefärbte Gläschen gilt als unterste Grenze der Wirksamkeit und wird als *limes* bezeichnet.

Genauere Resultate erhält man nach *Baumann* wenn man die Diastasebestimmung mit gepufferten Lösungen ausführt. Die Pufferlösung wird aus genau gleichen Teilen von $\frac{1}{10}$ n Lösung primären Kaliumphosphats (KH_2PO_4 , 9.076 in einem Liter destillierten Wassers) und $\frac{1}{10}$ n Lösung sekundären Natriumphosphats (11.876 g in einem Liter Wasser) hergestellt. Die Lösungen sind in gut verschlossenen Flaschen haltbar. Die Verdünnungen des Harnes werden wie oben mit Kochsalzlösung hergestellt. Hierauf bringt man in jedes Röhrchen 1 cm^3 des Puffergemisches und 1 cm^3 einer $\frac{2}{100}$ wigen Stärkelösung. Weiter wie oben.

Bei der Berechnung wird festgestellt wieviel Stärkelösung durch 1 cm^3 Urin in der Versuchsdauer abgebaut wird. Als Maß der Fermentwirkung gilt nicht das Limesröhrchen sondern das nächsthöhere. Wurde z. B. das neunte Röhrchen blaurot so wird für die Berechnung das achte genommen (128fach verdünnter Urin).

Die Fermentmenge erhält man durch Multiplikation der Verdünnungszahl mit 2 also in unserem Beispiel $2 \times 128 = 256$ Einheiten.

Der normale Urin enthält bis 61 Einheiten

Inhalt 2

Schwangerschaftsreaktion nach Aschheim Zondek.

Die Reaktion beruht auf der Beobachtung daß gleich nach Einbettung des Fies eine explosionsartige Produktion von Hypophysenvorderlappensekret (H V S) einsetzt welches das Blut überschwemmt und in großer Masse im Harn ausgeschieden wird. Infolgedessen kann die Diagnose der Schwangerschaft bereits in den frühesten Stadien (schon acht bis zehn Tage nach dem ersten Ausbleiben der Menses) durch Nachweis des H V S im Harn gestellt werden. Der Nachweis erfolgt indem kleine Mengen des zu untersuchenden Harnes infantilen weiblichen Mäusen subcutan injiziert werden (s. u.) Die spezifische Wirkung des H V S äußert sich im Verlaufe von 100 Stunden.

Das H V S ausgeschiedene Sexualhormon von Aschheim und Zondek, Prolan genannt, enthält zwei erst erwähnte Stoffe das Follikelreifungshormon (Prolan V) und das Luteinierungshormon (Prolan H). Die im Prolan am Genitale der weiblichen Mäuse hervorgerufenen Veränderungen werden an den beiden Ausgängen der Hypophysen

Vorderlappen-Reaktion (H V R) I, II und III geschieden. H V R. I wird durch Prolan A, H V R. II und III werden durch Prolan B hervorgerufen.

H V R. I ist charakterisiert durch Veränderungen an Ovarien, Uterus und Scheide. Sie führt zur Follikelreifung, Ovulation und Brunstauslösung. Die Oberfläche des vergrößerten hyperamischen Ovariums wird von hirsekorngroßen durchsichtig blauen Erhebungen überragt, die vergrößerten mit Follikelsaft gefüllten Follikeln entsprechen. Die Uterushörner sind glatt aufgetrieben, hyperamisch, oft prall mit Sekret gefüllt. Das Scheidensekret zeigt die Brunstreaktion an, d. h. das typische reine Schollenstadium des Oestrus. Man findet darin zahlreiche verhornte Epithelzellen, während außerhalb der Brunstzeit nur Schleim, vereinzelte Leukocyten und Epithelzellen nachweisbar sind. Das Sekret wird mittels kleiner Platinoase aus der Vagina entnommen und in einem Tropfen Kochsalzlösung oder 10%iger Essigsäure untersucht.

H V R. II führt zur Bildung sogenannter Blutpunkte, die makroskopisch als scharf umschriebene, die Oberfläche des Ovariums überragende, braune bzw. blaurote stecknadelkopfgroße Erhebungen sichtbar sind. Sie rühren von Massenblutungen in den vergrößerten Follikeln her.

H V R. III führt zur Lutealisierung der Follikel, Bildung von Corpora lutea atretica. Die luteinisierten Zellen umschließen meist das Ei, ohne daß die Follikel vergrößert zu sein brauchen. Makroskopisch bzw. bei Lupenbetrachtung erscheinen die Corpora lutea als hirsekorngroße, gelblich opake, die Oberfläche des vergrößerten, hyperamischen Ovariums überragende Vorwölbungen.

Für die Diagnose der Schwangerschaft beweisend, sind H V R. II und III, nicht H V R. I, da Prolan A auch im Harn nichtschwangerer Frauen in großer Menge auftreten kann, z. B. im Klimakterium bei Uteruscarcinom.

Ausführung des Versuches. Zur Untersuchung verwendet man den ersten Morgenharn, der die günstigsten Konzentrationsverhältnisse zeigt. Die Entleerung des Harnes mittels Katheter ist zweckmäßig, aber nicht erforderlich. Wichtig ist, daß der Harn in einer vollkommen sauberen Flasche aufgefangen wird. Kann er nicht sofort untersucht werden, setzt man zu je 25 bis 30 cm³ Harn einen Tropfen (nicht mehr!) Trikresolum purum zu. Der Harn wird filtriert und falls er alkalisch reagiert mit 10%iger Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt. Während des Versuches ist er kühl aufzubewahren. Als Versuchstiere dienen infantile drei bis vier Wochen alte, 6 bis 85 g schwere weibliche weiße Mäuse. Man verwendet zu jedem Versuch fünf Tiere, weil mit Tierverlusten während des Versuches zu rechnen ist und nicht alle Tiere gleichmäßig reagieren. Jedes Tier erhält im Laufe von

drei Tagen sechs Injektionen. Zwischen zwei Injektionen soll ein Zwischenraum von fünf Stunden sein. Man injiziert am ersten Tag zweimal am zweiten dreimal am dritten einmal und zwar erhält

Tier 1	
2	$6 \times 0.2 \text{ cm}^3$
3	$6 \times 0.25 \text{ cm}^3$
1	$6 \times 0.3 \text{ cm}^3$
5	$6 \times 0.35 \text{ cm}^3$
	$6 \times 0.4 \text{ cm}^3$

Die Tiere werden 96 Stunden nach der ersten Injektion also am fünften Versuchstage durch Einatmen von Gas oder Äther getötet.

Zur Sektion werden die Pfoten des auf dem Rücken liegenden Tieres auf einer Korkplatte mit Stecknadeln befestigt. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wird das Rectum am untersten Ende durchschnitten die obere Körperhälfte durch einen Querschnitt oberhalb der Nieren abgetrennt und die untere Körperhälfte wiederum durch zwei Stecknadeln fixiert. Die Nieren werden mit Pinzette herausgedreht. Dies muß vorsichtig geschehen da unter ihrem unteren Pol die Ovarien liegen. Jetzt hat man einen guten Überblick über Uterus und Ovarien. Die Reaktion ist als positiv zu betrachten wenn auch nur bei einem Tier ein Blutpunkt oder ein uterischer Follikel nachweisbar ist. Oft sind dann auch die Uterushörner vergrößert hyperämisch und prall gefüllt. Ergibt sich nur der letztere Befund so empfiehlt sich Wiederholung der Untersuchung Blutpunkte und uterische Follikel sind meist schon makroskopisch oder mit Lupe deutlich erkennbar. Im Zweifelsfalle untersucht man die Ovarien in folgender Weise mikroskopisch.

Von anhaftendem Fett befreite und durch kurzes Abpülen mit Wasser vom Blut gereinigte Ovarien und Eileiter werden auf einem Objektträger in einen Tropfen Glycerin gebracht mit einem zweiten Objektträger ohne Druckanwendung bedeckt und mit schwarzer Vergrößerung untersucht. Die Blende wird so weit geschlossen, daß die Follikel mit dem im Zentrum gelegenen Eisellen scharf erkennbar sind. Ist der Versuch negativ so erscheinen die Follikel der infantilen Maus als lichte runde Gebilde in deren Innern deutlich die Eiselle zu sehen

ist. Im positiven Falle erscheinen die luteinisierten Follikel und Corpora lutea atretica als runde Gebilde von dunkelgrauer Farbe die Blutpunkte als leuchtend rote Herde innerhalb der Follikel.

Die Reaktion fällt nur bei lebender Frucht positiv aus.

Eine Modifikation der Reaktion kurz die Versuchsdauer um einen Tag ab und ist mit weniger Tierverslusten verbunden. Der Harn wird durch Ausschütteln mit Äther und Zusatz von Traubenzucker entgiftet und kann daher in größeren Dosen den Tieren eingespritzt werden. 30 cm^3 möglichst frischer sauer reagierender filtrierter Morgenharn werden im Schütteltrichter mit 90 bis 120 cm^3 Narkoseäther drei bis fünf Minuten gründlich geschüttelt. Der im Schütteltrichter untenstehende Harn wird in eine flache Schale abgelassen und zum Abdampfen des Äthers an das offene Fenster oder auf ein Wasserbad von 40° gestellt. Der Harn wird mit 0.9 g Traubenzucker versetzt. Jeder der fünf infantilen Mäuse (Gewicht 65 bis 85 g) werden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je dreimal 0.5 g Harn subcutan injiziert also im ganzen 3.0 g. Die Injektionen erfolgen in zirka fünfständigen Zwischenpausen. Die Tötung und Sektion der Tiere erfolgt 72 Stunden nach der ersten Injektion.

In dringenden Fällen kann die Dauer des Versuches bis zu 24 Stunden abgekürzt werden. Man benutzt hierzu als Versuchstier das Kaninchen. Die Technik ist einfach. Virginellen oder drei bis vier Wochen isoliert gehaltenen weiblichen Tieren von etwa 2000 g Gewicht wird 10 cm^3 des zu untersuchenden Harnes in die Ohrvene langsam eingespritzt. Nach 24 Stunden Laparotomie. Bei normalen Tieren zeigt das Ovarium eine gelbweiße Oberfläche man sieht eine Anzahl durchscheinender Follikelbläschen. Bei positivem Ausfall sieht man mehrere Follikel deren Oberfläche blutig imbibierte ist oder ein dichtes Blutgefäßnetz aufweist. Unter der Lupe zeigt sich an einer Stelle des Follikels eine Erosion. Mit altem Blute gefüllte Follikel stammen aus früheren Schwangerschaften. Für die Diagnose sind nur frische bluthaltige Follikel zu verwerten.

IX. Kapitel

Untersuchung des Blutes

Bestimmung des spezifischen Gewichtes

Methode von Hammerschlag Ein Gemisch von Chloroform (spezifisches Gewicht 1.527) und Benzol (spezifisches Gewicht 0.880) im Verhältnis von etwa 2 : 5.5 bringt man in ein 100 cm³ fassendes trockenes Zylinderglas. Das Gemisch soll ein spezifisches Gewicht von etwa 1.050 bis 1.055 haben und das Zylinderglas bis zu drei Viertel seines Volumens füllen. Man bringt schnell einen mittelgroßen aus der Fingerbeere ausfließenden Blutstropfen in die Flüssigkeit. Bei dem Einbringen des Tropfens und den folgenden Manipulationen soll das Zerreißen des Tropfens in kleinere Teile möglichst verhütet werden. Sinkt der Blutstropfen in der Benzolchloroformmischung zu Boden, so ist das spezifische Gewicht der Flüssigkeit geringer als das des Blutes. Man gibt alsdann einige Tropfen Chloroform zu, vermischt durch vorsichtiges Neigen des Zylinders beide Flüssigkeiten, wobei man mit der Hohlhand die Öffnung des Zylinderglases verschließt. Bleibt jetzt der Tropfen an der Oberfläche, so muß ein Tropfen Benzol zugefügt und die Flüssigkeit wiederum durchgemischt werden. Der Zusatz von Chloroform bzw. Benzol wird so lange fortgesetzt, bis der Tropfen in der Flüssigkeit einen festen Stand einnimmt, so daß er weder steigt noch fällt, dann haben das Benzolchloroformgemisch und der Blutstropfen dasselbe spezifische Gewicht. Man bestimmt jetzt mittels eines Aräometers das spezifische Gewicht der Flüssigkeit. Das Benzolchloroformgemisch wird durch einen trockenen Filter abfiltriert und kann für spätere Untersuchungen benutzt werden. Das spezifische Gewicht des normalen Blutes beträgt 1.055 bis 1.060.

Bestimmung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes

a) *Hohlperlenkapillarmethode nach Werner Schultz.* Die zur Ausführung dieser Methode er

forderlichen Gerinnungsröhrchen bestehen aus einem Teilstück mit 10 bis 15 eng aneinanderliegenden kugeligen Ausblasungen die in einen kurzen glatten Stiel auslaufen. Die Intervallstücke sollen möglichst kurz sein und einseitig geritzt, damit die kugeligen Ausblasungen entsprechend dieser Markierung abgebrochen werden können.

Vor der Blutentnahme wird ein Gestell mit 12 bzw. 24 Reagensgläsern aufgestellt deren jedes 1 cm³ physiologische Kochsalzlösung enthält.

Das Blut wird aus einer Armvene mit einer sorgfältig gereinigten und ausgetrockneten Kanüle entnommen. Nach dem Einstich der Kanüle nimmt man die Stauungsbinde ab und bringt, nachdem die ersten Tropfen abgelaufen sind das Gerinnungsröhrchen an die Öffnung der Kanüle in schräger Richtung mit dem Stiel nach unten das Blut füllt dann die Hohlperlenkapillare sehr rasch, jetzt wird die Kapillare mit einem trockenen Wattebausch ganz kurz von außen abgetrocknet und auf eine geeignete glatte staubfreie Unterlage mit dem Stiel etwas erhöht (auf einem Bleistift o. dgl. gestützt) hingelegt. Man notiert genau die Zeit der Blutentnahme und versorgt die Punktionsöffnung. Nach fünf Minuten beginnt man mit dem Abbrechen der Hohlperlen. Um die Einwirkung der Körpertemperatur auf die Gerinnung zu vermeiden bedient man sich hierzu zweier anatomischer Pinzetten mit denen man die letzte und vorletzte Perle anfaßt und entsprechend der Markierung mit einem kurzen Ruck abbricht. Bei großer Übung und raschem Arbeiten kann man auch das Abbrechen mit der Hand ausführen. Die abgebrochene Perle bringt man in ein Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung und schüttelt kräftig durch. Ist noch keine Gerinnung eingetreten so färbt sich die Flüssigkeit gleichmäßig rot und die Perle entleert sich vollständig. Nach je einer Minute werden die folgenden Perlen abgebrochen und in derselben Weise behandelt. Der Beginn der Gerinnung des Blutes dokumentiert sich durch das Auftreten eines kleinen Gerinnsels nach dem Ausschütteln der Perle. In den folgen-

den Perlen wird das Gerinnsel immer größer und zum Schluß der Gerinnung bleibt die Flüssigkeit fast farblos und das geronnene Blut tritt nicht mehr aus der Perle heraus. Es empfiehlt sich nach dem Beginn der Gerinnung nicht mehr so kräftig zu schütteln wie bei den ersten Perlen.

Die Gerinnungszeit für das normale Blut beträgt nach dieser Methode 9 bis 13 Minuten. Bei Hämophilie ist die Gerinnungsfähigkeit des Blutes bedeutend herabgesetzt und beträgt in ausgesprochenen Fällen 20 bis 30 Minuten. Bei Leukämien ist die Gerinnungszeit verkürzt.

b) Methode nach Mas y Magre

In ein mit Paraffin überzogenes Uhrgläschen wird ein großer Tropfen Paraffinöl hineingegeben. Die mit Alkohol und Äther sorgfältig gereinigte Fingerkuppe wird angestochen und der erste Blutstropfen verworfen. Man drückt sanft und saugt den zweiten Tropfen mit der 20 mm³ fassenden Pipette des Seklischen Hämometers (die Pipette wird vorher durch Aufsaugen und Ausblasen mit Paraffinöl innen benetzt) auf, bläst den Blutstropfen in das Paraffinöl auf dem Uhrglase hinein und zählt von diesem Momente ab die Gerinnungszeit. Das Blut wird von zwei zu zwei Minuten wieder in die Pipette aufgesaugt, wobei die Spitze der Pipette jedesmal mit Filterpapier abgetupft wird. Solange das Blut nicht geronnen ist, steigt es in die Pipette auf. Nach eingetretener Gerinnung steigt das Blut nicht mehr in die Pipette auf. Bei einer Temperatur von 15°C zeigt normales menschliches Blut eine Gerinnungszeit von acht bis zwölf Minuten im Durchschnitt zehn Minuten. Für klinische Zwecke ist es ausreichend, wenn die Temperatur zwischen 15 und 25°C liegt.

Da die aus demselben Hautschnitt später gewonnenen Blutstropfen schneller gerinnen als die ersten, so ist es notwendig, um vergleichbare Resultate zu erhalten, stets den zweiten Tropfen zu untersuchen.

Bestimmung der Blutkörperchenresistenz gegen anisotonische Lösungen

Die Methode beruht auf folgenden Tatsachen. Eine 0·85%ige Kochsalzlösung ist dem Blute isotonisch d. h. in einer solchen Lösung findet kein osmotischer Austausch zwischen den roten Blutkörperchen und der Kochsalzlösung statt. Bringt man rote Blutkörperchen in eine konzentriertere Kochsalzlösung so schrumpfen sie infolge der wasser entziehenden Kraft dieser hypertonen Lösung zusammen. In einer verdünnteren (hypotonischen) Lösung quellen die roten Blutkörperchen und verlieren zum Teil ihr Hämoglobin es tritt Hämolyse ein. Im normalen Blut beginnt die Hämolyse bei einer Kochsalzkonzentration von 0·45% bei hämolytischem Ikterus ist die Resistenz der Erythrocyten vermindert und die Hämolyse beginnt schon bei 0·60%.

Nach *Hamburger* wird die Bestimmung folgender weise ausgeführt. Man bringt in eine Reihe von trichter förmigen Röhrchen (Hämatokritröhrchen) je 2·0 cm^3 Kochsalzlösung von steigender Konzentration von 0·3 bis 0·8%, wobei die Differenz zweier Lösungen 0·01% beträgt. Jedes Röhrchen wird mit 0·05 cm^3 Blut besetzt vorsichtig um gerührt und 15 Minuten stehen gelassen. Hierauf wird zentrifugiert. Diejenige Lösung die noch gerade farblos geblieben ist zeigt die Resistenzgrenze.

Die Bestimmung kann auch mit ausgewaschenen roten Blutkörperchen ausgeführt werden. In der klinischen Praxis verfährt man am einfachsten folgenderweise. Man entnimmt mit einer trockenen Nadel in ein trockenes Gefäß etwa 10 cm^3 Blut defibriniert es unter leisem Schütteln mit Glasperlen und zentrifugiert es sofort ab. Das Serum wird abgegossen und durch eine 0·9%ige Kochsalzlösung ersetzt und noch mals abzentrifugiert. Die klare Lösung wird wiederum abgegossen, worauf man aus dem dicken Blutkörperchenbrei eine 20%ige Aufschwemmung herstellt (1·0 + 4·0 cm^3 0·9% NaCl). Die verschiedenen Konzentrationen der Koch

salzlosung werden am einfachsten folgenderweise hergestellt. Man bringt in 20 Reagensgläsern je 10 cm^3 0.9%ige Kochsalzlösung und setzt steigende Mengen destillierten Wassers zu beginnend von 0.3 cm^3 und steigend um 0.1 cm^3 . Die Kochsalzkonzentration jedes Röhrchens erhält man wenn man die Zahl 0.9 durch das Gesamtvolumen der Flüssigkeit dividiert z. B. $1.0\text{ Kochsalzlösung} + 0.5\text{ Wasser} = \frac{0.9}{1.5} =$

0.6%. Auf diese Weise erhält man eine Reihe Kochsalzlosungen mit Abständen von 0.03, 0.02 und 0.01%. Man bringt von diesen Lösungen je 1.0 cm^3 in 20 Reagensgläser setzt zu jedem Reagensglas 0.05 cm^3 der 20%igen Aufschwemmung der roten Blutkörperchen rührt leicht um und läßt stehen bis die roten Blutkörperchen sich abgesetzt haben und die Hämolyse abgelesen werden kann. Man kann auch nach 15 Minuten abzentrifugieren.

Die Gefrierpunktsbestimmung des Blutes

Die Bestimmung des Gefrierpunktes wird mit dem Blutserum ausgeführt. Da für jede Bestimmung mindestens zirka 6 bis 10 cm^3 Serum erforderlich sind muß das Blut durch Venenpunktion oder mittels eines Schröpfkopfes gewonnen werden. Die Ausführung geschieht in derselben Weise wie bei der Gefrierpunktsbestimmung des Harnes (vgl. Seite 162). Der Gefrierpunkt des normalen Blutserums beträgt -0.56°C . Bei Niereninsuffizienz ist er erniedrigt.

Bestimmung der Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen

Nach *Westergreen*. Eine Rekordspritze von 1.0 bis 2.0 cm^3 Inhalt (der Stempel und die feine Hohnadel müssen gut schließen) wird bis ein Fünftel des ganzen Volumens mit 3.8% (isotonischer) Natriumcitratlösung gefüllt. Hierauf Venenpunktion, Füllung der Spritze und sofortiges Ausspritzen in ein kleines Reagensglas (von 2 bis 3 cm^3 Inhalt) letzteres einige Male umrühren. Als Sedimentierungs-

gefäß benutzt man eine 30 cm lange Röhre von 25 mm innerem Durchmesser die eine Marke entsprechend 200 mm Höhe trägt und in Millimeter eingeteilt ist. Das Blut wird in die Röhre aufgesogen und wieder drei bis fünfmal ausgeblasen dann bis 200 mm Höhe aufgesogen und die Sedimentierungspipette vertikal in ein Gestell gebracht in dem die Spitze mittels einer Stahlfeder gegen ein Gummistück gedrückt wird. Nach 1 2 und 24 Stunden wird die Höhe der Plasmasäule von dem unteren Meniscus der Oberfläche bis zu der Stelle an der die Verdichtung der roten Blutkörperchen beginnt abgelesen. Normal findet man bei gesunden Männern nach einer Stunde 2 bis 6 mm Senkung bei Frauen 3 bis 8 mm. Seltener findet man 4 bis 7 bzw. 8 bis 12. Größere Zahlen kommen bei verschiedenen Krankheiten mit verstärktem Zellerfall vor.

Man bezeichnet als S M R. den Mittelwert des Ein- und Zweistundenwertes. Er wird so berechnet, daß man die Einstundenzahl a zu der Hälfte der Zweistundenzahl b addiert und durch 2 dividiert; Beispiel
 $a = 22 \text{ mm}, b = 46 \text{ mm. S M R} = \frac{22 + 23}{2} = 22.5$

Als Endwert berechnet man die Millimeterszahl der endgültigen Senkung. Endwert und 24-Stunden-Wert sind gleichbedeutend. Normaler Endwert ist erreicht in etwa acht Stunden.

Mikrosenkungbestimmung nach A. Kowarski

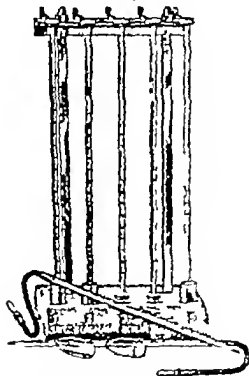
Notwendige Apparatur*) Die Blutentnahme wird mittels einer mit Gummischlauch versehenen Pipette ausgeführt die zwei Marken entsprechend 0.08 und 0.2 cm³ trägt. Bis zur Marke 0.08 wird eine 3.8%ige Natriumcitratlösung aufgesaugt und in ein kleines Spitzgläschen entleert. Als Senkungsröhre wird ein 25 cm hohes Röhrchen von 1.3 mm lichter Weite das Millimeterteilungen bis zur Höhe von 150 mm trägt verwendet. Zur Sedimentierung wird dieses Röhrchen in ein Gestell eingeklemmt das für fünf solcher Röhren Platz hat.

Ausführung Man bringt zunächst 0.08 cm³ Citratlösung in das Spitzgläschen die Fingerbeere wird

*) Bei *Leitz Bergmann* erhältlich.

hierauf mit Äther abgerieben der Einstich wird mit der *Frankschen* Nadel ausgeführt. Durch leichten Druck gelingt es immer große Tropfen zu erzielen und die Pipette bis zur Marke 0.2 schnell zu füllen. Um das Zurückfließen des Blutes aus der Pipette zu verhindern muß man beim

Fig. 37



Aufsaugen des Blutes die Pipette möglichst horizontal halten. Das Blut wird in das Spitzglaschen entleert und durch wiederholtes Aufsaugen und Ausblasen mit der Citratlösung gut vermischt. Hierauf wird das Blutgemisch in das Senkungsröhrchen bis zur Marke 0 aufgezogen und das Röhrchen in das Gestell eingeklemmt. Das Ablesen und die Berechnung geschieht in derselben Weise wie bei der *Westergreenschen* Methode.

Um Gerinnungen zu verhüten, soll bei der Reinigung der Pipetten Alkohol nicht angewandt werden: man spült die Pipette mittels der Wasserstrahlpumpe mit destilliertem Wasser gut durch und trocknet sie darauf im Luftstrom. Steht eine Wasserstrahlpumpe nicht zur Verfügung, so trocknet man die Pipetten nach Durchspülung mit destilliertem Wasser am Herde oder Ofen. Sind Blutreste in der Pipette haften geblieben, so bringt man sie zur Auflösung des Blutes in eine 1%ige Natriumhydratlösung. Darauf Spülung zuerst mit Leitungswasser, dann mit destilliertem Wasser. Um die bakterielle Verunreinigung der Citratlösung zu verhüten, empfiehlt es sich, sofort nach der Herstellung der Lösung (8,8%) die Flasche 30 Minuten in kochendem Wasser zu erhitzen; ferner soll man, um die Infizierung der Lösung durch die Pipetten zu vermeiden, für jede Untersuchung 1 bis 2 cm^3 in ein Glaschen bringen und die notwendige Menge aus diesem mit der Pipette entnehmen.

Bei gesunden Menschen ergibt die Methode Werte von 3 bis 8 mm. Werte über 10 mm müssen als pathologisch bezeichnet werden.

Die Methode hat den Vorteil, daß die Venenpunktion vermieden wird und die Senkungsgeschwindigkeit gleichzeitig mit der Untersuchung des Blutstatus aus demselben Fingerbeereineinstich ausgeführt werden kann. Die erhaltenen Werte stimmen im allgemeinen mit denjenigen der *Westergreenschen* Makromethode gut überein. Sie sind (entsprechend der etwas niedrigeren Blutsäule) etwas niedriger; dies ist aber für die klinische Beurteilung belanglos.

Bestimmung der Blutungszeit.

Man bringt an einen frischen kleinen Stich der spontan bluten muß, alle 10 oder 15 Sekunden ein Blatt Fließpapier; saugt die Blutstropfen in einer Serie auf, bis sie kleiner werdend schließlich ganz versiegen. Aus Zahl und Zwischenzeit der Tropfen ergibt sich die Blutungszeit. Man berühre stets nur die Kuppe des Blutstropfens. Normal beträgt die Blutungszeit etwa ein bis zwei Minuten.

Die Bestimmung der Blutungszeit ist von Bedeutung bei der Differentialdiagnose der Formen von Purpura. Sie ist normal bei athrombopenischer Purpura, stark verlängert bei Purpura *Werthoffii* (thrombopenische Purpura), oft verkürzt bei Hämophilie.

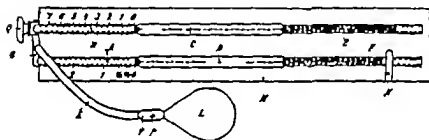
Die Retraktion des Blutkuchens.

Die Retraktion des Blutkuchens ist eine Erscheinung, die in der Auspressung des Blutserums nach vollendeter

Gerinnung besteht. Das Phänomen ist von der Menge der Blutplättchen und der Elastizität des gebildeten Fibrins abhängig. Fehlende Retraktion ist ein Zeichen der Plättchenabnahme und findet sich bei Thrombopenien aller Art.

Die Untersuchung wird nach *Frank* am besten im Uhrschälchen ausgeführt. Das mit der Spritze entnommene Blut wird in ein sauberes und trockenes Uhrglas gebracht. Nach erfolgter Gerinnung löst man die Ränder des Blutkuchens ab; der Blutkuchen schwimmt dann im Serum. Um schnelles Austrocknen zu verhüten, bringt man das

Fig. 38



Viscometer von Hess

Uhrglas in eine Petrischale. Normalerweise vollzieht sich die Retraktion in einer bis sechs Stunden. *Fonio* hat einen Apparat zur Messung der Retraktion angegeben.

Bestimmung der Viscosität (innere Reibung)

Prinzip Man läßt eine bestimmte Menge Blut durch eine lange Capillare unter Druck oder Saugkraft passieren und stellt die hierzu erforderliche Zeit fest. Hierauf wiederholt man den Versuch mit destilliertem Wasser bei derselben Temperatur. Das Verhältnis der festgestellten Zeiten ergibt die relative Viscosität.

Für klinische Zwecke benutzt man die Viscometer von *Hess* oder *Hess Determann*. Bei dem Apparate von *Hess* (Fig. 38) wird die Viscosität nicht durch den Ver

gleich der Durchlaufzeiten sondern durch den Vergleich der Durchlaufmengen von Blut und Wasser in gegebener Zeit bestimmt

Durch den Ballon *L* wird auf zwei Capillarröhrchen gleichzeitig eine Saugkraft ausgeübt. In dem einen Röhrchen befindet sich destilliertes Wasser in dem anderen das zu untersuchende Blut. Nach Durchtritt einer bestimmten Menge Blut durch das eine Capillarröhrchen wird die innerhalb derselben Zeit durch das andere Capillarröhrchen durchgetretene Wassermenge festgestellt. Das Verhältnis der Wassermenge zur Blutmenge ergibt die Viscosität. Das Blut wird aus dem Ohrfläppchen oder der Fingerbeere entnommen. Zur Vermeidung von Gerinnung wird ein Kornchen *Hirudin* zu dem Blute hinzugefügt.

Die Bestimmung der Viscosität des Blutes hat für die Diagnose einen geringen Wert. Dagegen ist die Viscosität des Serums von größerer Bedeutung da diese über den Eiweißgehalt des Serums Aufschluß gibt.

Bei 5% Eiweiß ist die Viscosität	1 43
5 5°	1 46
6%	1 51
6 5%	1 56
7%	1 61
7 5%	1 67
8%	1 72
8 5%	1 78
9%	1 84
9 5%	1 90

Es sind nur Annäherungswerte. Bei Temperaturen zwischen 17 und 23° ist eine Temperaturkorrektur nicht erforderlich. Für die Bestimmung der Serumviscosität ist ein Apparat erforderlich der die Ablesung der zweiten Dezimale ermöglicht.

Der Apparat nach *Determann Hess* besteht aus zwei gleichkalibren Capillarröhrchen die in einem Wassermantel eingeschlossen sind (Fig. 39). Der obere Teil der

Röhrchen ist geeicht. Als treibende Kraft wirkt gleichzeitig auf beide Röhrchen die Schwere. Nach Füllung des Mantels mit Wasser von etwa 20°C wird das durch Hirudin ungerinnbar gemachte Blut bei horizontaler Lage des Apparates in das Röhrchen I mittels an den oberen Teil des Röhrchens angesetzten Gummischlauches bis zum Beginn des verengten Teiles der Capillare aufgesogen. Dasselbe geschieht mit destilliertem Wasser das in das Röhrchen II aufgesaugt wird. Hier auf bringt man sowohl das Blut wie das Wasser bis zum Nullpunkt der Skala. Jetzt stellt man den Apparat senkrecht und läßt das Blut bis zur Marke I der Skala absinken dann stellt man den Apparat wieder horizontal und sieht wie weit das destillierte Wasser gefallen ist. Die abgelesene Zahl zeigt den Grad der relativen Viscosität an.

Bei der Ausführung der Viscositätsbestimmungen ist stets mit größter Sorgfalt auf absolute Reinheit der Capillarröhrchen zu achten. Am besten läßt man die Röhrchen nach Füllung mit Schwefelsäure-Dichromat-Gemisch 24 Stunden stehen worauf lange mit destilliertem Wasser nachgespült und unter Durchströmung mit Luft getrocknet wird.

Hess empfiehlt die Capillaren sofort nach der Bestimmung mit konzentrierter Ammoniaklösung durchzuspülen.



Refraktometrische Eiweißbestimmung und Bestimmung der Albumin und Globulinwerte im Serum.

Die Refraktion einer Eiweißlösung ist direkt proportional dem Eiweißgehalt weil die Lichtbrechung eine das Eiweiß charakterisierende Eigenschaft ist. Je 1% Eiweiß macht einen Brechungszuwachs von 0,0019. Die Salze des Serums sowie die Schwankungen im Kohlensäure

gehalt verursachen keine wesentlichen Veränderungen des Brechungswertes. Dagegen bewirkt ein hoher Globulin-gehalt des Serums sowie Anwesenheit besonderer Globuline nennenswerte Fehler, jedoch übersteigen diese nie 0.3% Eiweiß. Da die chemische Fällungsmethode auch nicht einwandfrei ist und dazu noch kompliziert und zeitraubend ist, so empfiehlt *Nägeli* für die klinische Praxis die Bestimmung mit Hilfe des Refraktometers, da diese schnell und mit nur zwei Tropfen Serum sich ausführen läßt. Ihr Nachteil besteht in den Anschaffungskosten eines teuren Apparates.

Die Bestimmung der Refraktion des Serums bzw. Plasmas wird mit dem *Pulfrich'schen* Eintauchrefraktometers (*Zeiss* Jena) ausgeführt. Die Gebrauchsanweisung wird dem Apparat beigegeben.

Nach *Reiss* entsprechen den Refraktionseinheiten folgende Eiweißmengen:

40 Refraktionseinheiten	= 3.94% Eiweiß
45	= 5.03%
50	= 6.12%
55	= 7.20%
60	= 8.28%
65	= 9.35%

Normalwerte für Erwachsene 7.0 bis 9.1% (*Nägeli*). Säuglinge 5.6 bis 6.6%, Kinder 5.9 bis 6.9%.

Unbrauchbar für refraktometrische Untersuchungen sind stark ikterische und chylöse Sera ebenso wie Serum von Diabetikern und bei Urämie, weil hier neue lichtbrechende Substanzen hinzukommen.

Der Eiweißgehalt eines Serums kann bekanntlich auch durch Viscositätsbestimmung festgestellt werden. *Nägeli* hat darauf hingewiesen, daß die Werte für Eiweiß, die durch Refraktion und Viscosität bestimmt werden, häufig auseinandergehen. Diese Divergenz kommt dadurch zustande, daß durch Vermehrung des Globulinanteiles im Serum die Viscosität in höherem Maße beeinflußt wird als

die Refraktion *Rohrer* konnte auf Grund dieser Tatsache eine Tabelle ausarbeiten die gestattet aus den Refraktions- und Viscositätswerten des Serums das Verhältnis der Globuline zu den Albuminen in diesem Serum festzustellen. In dieser Tabelle bilden die Refraktionswerte die Ordinate und Viscositätswerte die Abscisse. Der Kreuzungspunkt beider Werte trifft die Kurve des entsprechenden Albumin-Globulin Gemisches (Die Tabelle ist im Werke *Nagels* Blutkrankheiten 5 Aufl. S 49 enthalten)

Bestimmung des Hämoglobingehaltes

a) Das Hämoglobinometer von *Gowers* in der Modifikation von *Sahli*. Das Instrument besteht aus zwei Glasröhren von genau gleicher Weite von denen die eine mit einer Lösung von salzsaurem Hämatin zu drei Viertel gefüllt und von beiden Seiten zugeschmolzen ist. Die zweite ist nur unten zugeschmolzen trägt eine Skala mit Teilungen von 10 bis 140 und dient zur Aufnahme des zu untersuchenden Blutes. Beide Röhrchen befinden sich in einem schwarzen Rahmen mit weißer Rückwand wodurch die Farbenverschiedenheiten deutlich zu erkennen sind. Außerdem sind dem Apparate noch beigegeben 1. eine Kapillarpipette zur Abmessung von 20 mm³ 2. eine Tropf pipette zur Verdünnung des Blutes 3. ein Gefäß für verdünnte Salzsäure.

Die Ausführung der Bestimmung geschieht folgender weise. Man bringt zunächst in das graduierte Röhrchen einige Tropfen (bis zur Teilung 10 oder 20) einer verdünnten Salzsäurelösung (0.3%) Jetzt füllt man die Capillarpipette durch Ansaugen bis zur Marke mit Blut und bringt alsdann das Blut durch Ausblasen rasch auf den Boden des Salzsäure enthaltenden Röhrchens. Man schüttelt das Röhrchen gut um wobei die Farbe des Blutes sich durch Bildung von salzsaurem Hämatin verändert. Es entsteht eine dunkelbraune Flüssigkeit welche bei Verdünnung mit destilliertem Wasser die Farbe der Testflüssigkeit im zugeschmolzenen Röhrchen annimmt. Die Verdünnung mit destilliertem Wasser muß

vorsichtig tropfenweise ausgeführt werden. Mit dem Zusatz des destillierten Wassers beginnt man erst nach dem das Gemisch von Salzsäure und Blut eine Minute gestanden hat. Zum Umrühren benutzt man ein dünnes Glasstäbchen. Der Stand der Flüssigkeitssäule im Röhrchen gibt die Menge des Hämoglobins in Hämometergraden an, die eigentlich Prozente der Normalwerte darstellen sollen. In der Tat ist der Normalwert auf der *Sahlschen* Skala zu hoch gesetzt, so daß normale gesunde Menschen durchschnittlich nur einen Hämoglobinwert von 80% und Frauen von 70% aufweisen. In der Praxis müssen also die mit dem *Sahlschen* Hämometer gefundenen Werte korrigiert werden und zwar nach folgender Formel $x = \frac{a \cdot 100}{80}$ für Männer und $x = \frac{a \cdot 100}{70}$ für Frauen, wobei a die

abgelesene Hämometerzahl bedeutet. Man kann nach dem *Sahlschen* Hämometer auch die absoluten Hämoglobinwerte berechnen. *Bürker* hat festgestellt, daß die Standardlösung des neuen *Sahlschen* Hämometers (hergestellt von *Büchi* in Bern) einem Hämoglobingehalt von 17,3% entspricht. Dem festgestellten Hämometerwert a entspricht also ein absoluter Hämoglobinwert von $\frac{a \times 17,3}{100}$ g in 100 cm³

Blut. Da die Farbe der Testflüssigkeit sich mit der Zeit verändern kann, werden an Stelle der Lösungen gefärbte Glasstäbe benutzt. Die von *Baerwald* empfohlenen (von *Bergmann Leitz* vertriebenen) Hämometer mit derartigen Glasstäben haben sich in unserer Praxis gut bewährt. Die Bestimmung wird am besten bei Tageslicht ausgeführt und gibt für die Praxis gut brauchbare Resultate (Fehler bis 5%). Es empfiehlt sich, die Hämometer an einer Reihe von gesunden Menschen auf ihre Brauchbarkeit zu kontrollieren.

b) Colorimeter von *Autenrieth Kongsberger*

Bei diesem Apparat befindet sich die Vergleichsflüssigkeit in einem Glaskeil, der in seiner Längsrichtung verschoben wird. Die zu untersuchende Blutlösung bringt

man in den Glastrog des Apparates. Durch ein schmales Fenster sieht man nur einen kleinen Teil des Keiles und des Troges wobei durch eine optische Vorrichtung die Bilder dicht nebeneinander erscheinen. Hierdurch wird die Feststellung der Farbengleichheit erleichtert. Vor der Blutentnahme bringt man in den Trog 1.0 cm^3 0.1 normaler Salzsäure hierauf saugt man 20 mm^3 Blut in die Hämoglobinpipette und entleert sie in den Trog man füllt den Trog mit derselben Säure bis zur Marke (2 cm^3) wartet fünf Minuten und stellt auf Farbengleichheit ein jetzt wird der Skalenwert abgelesen und nach dem Apparate bei gegebenen Kurve der Hämoglobingehalt bestimmt.

Der Nachteil der Methode besteht darin daß der Kell nicht wie bei dem *Sakhschen* Hämometer mit Hämatur gefüllt ist sondern mit einer künstlich hergestellten Lösung der Vorteil in genauerer Ablesung und Haltbarkeit der Flüssigkeit.

c) Das Hämoglobinomometer von *Burker* ist ein präzis gebautes Eintauchkolorimeter Als Vergleichsflüssigkeit wird eine Lösung von reduziertem Hämoglobin in 1%iger Sodalösung benutzt. Die Ablesung ist bis auf 1% genau. Dieses Instrument ist zweifellos das beste kommt aber wegen des hohen Preises für praktische Zwecke wenig zur Anwendung

Zählung der Blutkörperchen

Die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen wird mit dem Zählapparat von *Thoma Zeiss* ausgeführt. Er besteht aus zwei Mischpipetten und einer Zählkammer Die Mischpipetten sind Capillarröhrchen von etwa 10 cm Länge und sind in der oberen Hälfte zu einem ovoiden Raum erweitert in dem letzteren befindet sich eine frei bewegliche Glasperle. Am Capillarröhrchen sind Marken 0.5 und 1.0 unter der ovoiden Erweiterung und 101 bzw 11 über derselben angebracht*) Die Mischpipette

*) Bei der Auswahl der Pipetten soll man darauf achten, daß die Teilung 1.0 ganz nahe an der Erweiterung der Pipette liegt.

auf der sich die Marke 101 befindet wird zur Zählung der roten die Pipette mit der Marke 11 zur Zählung der weißen Blutkörperchen benutzt

Die Zählkammer besteht aus einem Objektträger auf dem ein Glasrahmen mit einem kreisförmigen Ausschnitt aufgeklippt ist in der Mitte des Ausschnittes befindet sich ein rundes Glastischchen das auf seiner Oberfläche ein Netz kleinerer und größerer Quadrate trägt. Der äußere Rahmen überragt die Oberfläche des Glastischchens genau um 0.1 mm so daß wenn man auf den äußeren Rahmen ein Deckglas bringt der Abstand zwischen der unteren Fläche des Deckglases und der oberen Fläche des Glastischchens genau 0.1 mm beträgt.

Die Zählung der roten Blutkörperchen wird folgenderweise ausgeführt. Man saugt mit der entsprechenden Mischpipette Blut bis zur Marke 0.5 (bei schweren Anämien saugt man bis zur Marke 1.0) entfernt mit dem Finger etwaiges Blut von dem Ende der Mischpipette und saugt darauf von einer 2%igen Kochsalzlösung bis zur Marke 101. Es muß dabei darauf geachtet werden daß kein einziges Gasbläschen in die Mischpipette gelangt. Durch leichtes Schütteln das mindestens eine bis zwei Minuten dauern soll wird das Blut in der ovoiden Erweiterung gut verteilt. Jetzt werden drei bis vier Tropfen aus der Pipette ausgeblasen und dann ein Tropfen von mittlerer Größe auf das Glastischchen der Zählkammer gebracht. Der Tropfen wird unter Vermeidung von Luftblasen mit einem Deckglas zugedeckt und zwar muß das Deckglas auf dem äußeren Rahmen so fest aufliegen daß *Newtonsche* Ringe sichtbar sind. Es ist darauf zu achten daß nach dem Auflegen des Deckglases die Flüssigkeit nicht zwischen den äußeren Rahmen und Deckglas kommt. Ist es geschehen so muß ein kleinerer Tropfen zur Anfertigung des Präparates benutzt werden. Vorteilhafter ist die von *Nagels* empfohlene Methode der Füllung der Kammer. Man legt zunächst das Deckglas so auf daß *Newtonsche* Ringe entstanden sind und daß nur eine kleine Zone der

kammer nicht vom Deckglas bedeckt ist. Hier setzt man die Spitze der Mischpipette an und die Flüssigkeit strömt sofort ein und breitet sich im kapillaren Raum gleichmäßig aus. Die Zählkammer wird darauf mit ihrer Mitte unter dem Mikroskop so eingestellt (Lins. Objektiv 5 oder 7) daß die netzförmigen Teilungen und die auf ihnen liegenden roten Blutkörperchen deutlich zu erkennen sind.

Das Netzwerk des *Thoma Zeiss'schen* Apparates (vgl. Fig. 40 Mitte) besteht aus 16 großen dreifach konturierten Quadraten. Jedes große Quadrat ist durch einfache Linien in 16 kleine eingeteilt. Beim Zählen der roten Blutkörperchen empfiehlt es sich ein großes Quadrat einzustellen und die Blutkörperchen in jedem kleinen Quadrat zusammenzuzählen und zu notieren. Dabei werden nur die Zellen, die innerhalb des Quadrates und auf der oberen und linken Kante liegen berücksichtigt. Man zählt fünf große Quadrate das sind $5 \times 16 = 80$ kleine. Die Berechnung geschieht auf Grund folgender Betrachtung:

Die Seitenlänge eines jeden kleinen Quadrates beträgt $\frac{1}{20}$ mm seine Fläche demnach $\frac{1}{20} \times \frac{1}{20} = \frac{1}{400}$ mm². Da die Höhe der Blutschicht $\frac{1}{10}$ mm beträgt so wird das Volumen der Blutschicht das einem kleinen Quadrat entspricht $\frac{1}{400} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{4000}$ mm³ sein.

Die Zahl der Blutkörperchen in einem Kubikmillimeter Blut ergibt sich aus der Formel

$$x = \frac{m \cdot n \cdot 4000}{q}$$

in welcher m die Zahl der zusammengezählten roten Blutkörperchen, n die Zahl der Verdünnung des Blutes und q die Zahl der gezählten kleinen Quadrate bedeutet.

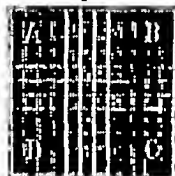
Die Zählung der Leukocyten geschieht in ähnlicher Weise mit folgenden Abänderungen:

Anstatt der Mischpipette mit Marke 101 nimmt man die Pipette mit Marke 11 (Letztere gestattet eine Verdünnung 1:10 oder 1:20).

Als Verdünnungsflüssigkeit benutzt man eine 5%ige Essigsäurelösung in welcher die roten Blutkörperchen aufgelöst und die weißen daher leicht erkennbar und zählbar werden. Setzt man zu der Essigsäurelösung Gentianaviolett zu so erzielt man eine deutliche Kernfärbung.

Wegen der geringen Anzahl Leukocyten in jedem Gesichtsfelde empfiehlt es sich eine große Zahl von Quadraten zusammenzuzählen. Zu diesem Zwecke ist am besten die von *Türk* vorgeschlagene Modifikation der *Thoma Zeiss*schen Zählkammer geeignet. Sie enthält außer den 16 großen Quadraten noch eine große Anzahl Quadrate von

Fig. 40



derselben Größe die aber nicht in kleine eingeteilt sind. Sie ermöglicht daher eine viel größere Menge Leukocyten zu zählen.

Die Zählung der Leukocyten in der *Turkschen* Kammer geschieht am einfachsten in der Weise daß man sämtliche Leukocyten die innerhalb der vier großen quadratischen Flächen (*A B C D*) die die Winkel des Netzes einnehmen liegen zusammenzählt. Die Zählung wird mit der kleinen Vergrößerung und enger Blende ausgeführt (*Leitz* Objektiv 3). Jede der Flächen *A B C D* ist 1 mm lang und ebenso breit so daß ihre Oberfläche 1 mm² entspricht. Man erhält die Zahl der Leukocyten in 1 mm³ Blut indem man die Summe der zusammengezählten Leukocyten mit

25 multipliziert wenn das Blut bis zur Marke 1·0 und mit 50 wenn das Blut bis zur Marke 0·5 aufgesaugt war

Bei sehr starker Vermehrung (Leukämien) werden die Leukocyten in derselben Weise wie die roten Blutkörperchen gezählt und nach derselben Formel berechnet.

Eine Verbesserung der *Thoma Zeiss'schen* Kammer ist von *Burker* vorgeschlagen worden. Die *Burkersche* Kammer enthält zwei voneinander durch eine Röhre getrennte Netzteilungen. Sie wird so benutzt daß man zunächst das Deckglas auflegt und erst dann die Blutflüssigkeit in die entstandene offene Kammer einführt. Die Flüssigkeit wird durch Capillarität aufgesaugt so daß auf diese Weise die mühselige und oft zeitraubende Füllung der Kammer wesentlich erleichtert wird.

Wir empfehlen die *Burkersche* Kammer mit der *Turkschen* Netzeinteilung.

Zur Erlangung richtiger Zahlenwerte bei der Zählung der Blutkörperchen ist eine gewisse Übung und große Exaktheit in der Ausführung aller Einzelheiten unbedingt erforderlich. Die Zählkammer und die Mischpipetten dürfen nur in sauberen und vollkommen trockenem Zustande benutzt werden. Nach jeder Zählung spült man die Mischpipetten zuerst mit einer 1%igen Natronlauge, dann mit Wasser, darauf mit Alkohol und schließlich mit Äther durch. Am schnellsten geschieht die Abspülung mittels der Wasserstrahlpumpe. Die Zählkammer darf nur mit destilliertem Wasser und Seidenpapier gereinigt werden.

Bestimmung des Färbeindex

Der Farbeindex soll einen Begriff über den Hämoglobingehalt der einzelnen roten Blutkörperchen geben. Zur Berechnung des Farbeindex muß der Hämoglobingehalt und die Zahl der roten Blutkörperchen bekannt sein. Es wird angenommen daß bei einem Hämoglobingehalt von 100% und 5 Millionen Erythrocyten in 1 mm³ Blut der Farbeindex = 1·0 ist. Will man den Farbeindex bei 30% Hämoglobin und

4 Millionen Erythrocyten bestimmen so muß das Verhältnis zwischen $\frac{30}{4\,000\,000}$ zu $\frac{100}{5\,000\,000}$ berechnet werden.

$$x = \frac{30 \times 5\,000\,000}{100 \times 4\,000\,000} = 0.38$$

Empirisch läßt sich der Färbeindex am einfachsten berechnen indem man die gefundene Hämoglobinzahl durch die 20fache Millionenzahl der roten Blutkörperchen dividiert z. B. bei 45% Hämoglobin und 2 500 000 roten Blutkörperchen beträgt der Index $\frac{45}{20 \times 25} = \frac{45}{50} = 0.9$.

Die Bestimmung des Färbeindex ist sehr wichtig für die Differentialdiagnose verschiedener Anämien

Die mikroskopische Untersuchung

A Die Untersuchung des frischen Präparates

Zur mikroskopischen Blutuntersuchung müssen stets spiegelblank mit Alkohol und Äther gereinigte Deckgläser und Objektträger benutzt werden. Man hebt die Kruppe eines kleinen ausquellenden Bluttröpfens mit dem Deckglase ab und legt es ohne jeden Druck oder Verschiebung auf den Objektträger. Das Blut breitet sich von selbst in einer sehr dünnen Schicht aus. Ist das Präparat richtig angefertigt, so sind in den mittleren Teilen des Präparates die Zellen einzeln nebeneinander gelagert und die Geldrollenbildung tritt nur in der Peripherie deutlich hervor. Bei der Untersuchung des frischen Präparates soll folgendes berücksichtigt werden

1. Die Intensität der Färbung der roten Blutkörperchen und der Geldrollenbildung
2. Morphologische Veränderungen der roten Blutkörperchen (Poikilocytose Anisocytose)
3. Vermehrung der Zahl der Leukocyten
4. Anwesenheit größerer Mikroorganismen (Recurrentspirillen Trypanosomen Filariaembryonen)

B Die Untersuchung des gefärbten Präparates

a) **Das Ausstreichen** Der Blutropfen wird mit der Unterseite eines Deckgläschens nahe dessen Rand abgehoben. Mit der linken Hand faßt man den bereit liegenden absolut reinen Objektträger an dem einen Ende und stellt das schrag gehaltene Deckgläschen mit der Kante auf die Oberfläche des Objektträgers an seinem anderen Ende. Dann neigt man das Deckgläschen bis der Blutropfen auch auf dem Objektträger haftet. Er läuft dann von selbst oder durch eine kurze entsprechende Bewegung an der Kante des Deckgläschens entlang. Jetzt schlebt man das immer schrag gehaltene Deckgläschen gleichmäßig rasch auf der Objektträgeroberfläche gegen die linke Hand hin und zieht so den Blutropfen hinter dem Deckgläschen her.

Der Azureosinfarbstoff nach *Giemsa* gelangt als fertige sogenannte Giemsalösung (neu) in den Handel und ist zur Färbung von Blutpräparaten stets *ex tempore* so zu verdünnen daß eineinhalb Tropfen dieser Flüssigkeit zu 1 cm^3 destilliertem Wasser zugesetzt werden. Die Präparate werden fünf Minuten in Methylalkohol fixiert, alsdann mit dem verdünnten Farbstoff übergossen und 30 Minuten gefärbt. Die Färbezeit wird für spezielle Zwecke bis zu 24 Stunden verlängert.

Die Giemsafärbung empfiehlt sich besonders zur Darstellung der Chromatinsubstanz der Zellkerne sowie zum Nachweis von Blutparasiten.

Zur besseren Darstellung der Leukocytengranulation empfiehlt *H. Momsen* die Giemsalösung auf eine bestimmte H Ionenkonzentration einzustellen. Die Firma *Karl Hollborn* (Leipzig) liefert fertige Kapseln, deren Inhalt in destilliertem Wasser gelöst die gewünschte Mischung ergibt.

Die Reaktion des destillierten Wassers spielt bei der Giemsafärbung eine wichtige Rolle. Über die Prüfung und Einstellung der Reaktion siehe Färbung des dicken Tropfens.

Schnellfärbung nach *Giemsa* Der *Giemsa* Farbstoff wird mit einer gleichen Menge Aceton oder Methylalkohol verdünnt (monatelang haltbar). Den Ausstrich bringt man in eine Petrischale und bedeckt ihn mit etwa 20 Tropfen des Farbstoffes. Nach einer halben Minute gießt man 10 cm^3 destilliertes Wasser hinzu, mischt gut durch und läßt drei bis fünf bis zehn Minuten einwirken. Alkalisches Wasser färbt schneller als neutrales. Abspülen, Trocknen.

Färbung und gleichzeitige Fixierung nach *May* und *Grunwald*

Das färbende Prinzip des *May*- und *Grunwald*schen Farbstoffes besteht aus einer chemischen Verbindung von Eosin und Methylenblau (eosinsaures Methylenblau). Aus dem Farbstoff wird eine gesättigte methylalkoholische Lösung hergestellt. Das frisch ausgestrichene lufttrockene Präparat wird mit der Farblösung aus einer Tropfflasche

übergossen man färbt zwei bis drei Minuten darauf färbt man vorsichtig aus einer Pipette eine gleiche Menge destillierten Wassers zu und läßt fünf bis zehn Minuten einwirken es folgt sodann Wasserspülung bis das Präparat einen hellrosaroten Farbenton angenommen hat

Färbung und gleichzeitige Linierung nach Leishman Der *Leishman'sche* Farbstoff ist in gebrauchsfertigen Zustand käuflich zu erhalten. Es ist jedoch zweckmäßiger anstatt der fertigen Lösung den Farbstoff in Substanz zu erwerben (*Gruber* Leipzig) und nach Bedarf eine gesättigte Lösung in Methylalkohol herzustellen (0.2 bis 0.3 g Substanz auf 30 cm³ Methylalkohol). Auf das lufttrockene Präparat bringt man 3 bis 20 Tropfen des Farbstoffes nach einer halben Minute färbt man die doppelte Menge Aqua destillata hinzu und mischt sorgfältig durch leichtes Bewegen des Objekttragers bzw. Deckglases. Auf Flüssigkeit und Wasser. Diese Mischung bleibt fünf Minuten auf dem Präparat stehen und wird dann mit Wasser abgespült. Man läßt 10 bis 20 Tropfen Wasser noch eine bis zwei Minuten auf dem Präparat stehen wobei man das Präparat einige Male leicht hin und her neigt. Es geht eine leichte bläuliche Farbwolke in das Wasser über und das Präparat erhält einen hellroten Farbenton. Darauf spült man ab läßt das Präparat in vertikaler Lage an der Luft abtrocknen und behandelt es weiter in der üblichen Weise. Diese Färbungsmethode liefert tadellose Bilder und ist für die tägliche Praxis sehr zu empfehlen.

Panoptische Färbung nach Lappenheim (Kombination von *May-Grünwald* und *Leisma*). Man bringt die *May Grünwald* Lösung auf das Präparat und läßt sie drei Minuten darauf. alsdann setzt man eine gleiche Menge destilliertes Wasser hinzu und färbt damit eine Minute. Hierauf wird die Flüssigkeit abgegossen und ohne Spülung mit frisch hergestellter wässriger *Leimsalzung* (eineinhalb Tropfen auf 1 cm³) 15 Minuten nachgefärbt. Hierauf gründliches Abwaschen. Trocknen (nicht über der Flamme) und Einbetten in neutralem Celloidin (oder Cedar).

Vitalfärbung Auf einen leicht erwärmten Objektträger wird nach der Art des Blutaussstriches eine dünne Schicht einer 1%igen alkoholischen Brillantkresyl-lösung aufgetragen. Die so präparierten Objektträger sind ziemlich lange haltbar. Die ausgestrichene Seite wird mit einem Fettstift gekennzeichnet. Auf die präparierte Seite wird das Blut nicht zu dünn ausgestrichen und auf 3 bis 10 Minuten in eine feuchte Kammer (mit nassem Fließpapier ausgelegte Petrischale) gebracht. Es folgt die Färbung des Präparates nach *Giemsa* oder *Leishman*. Die Methode wird hauptsächlich zur Darstellung der vital färbbaren Substanzen der Erythrocyten (Substantia granulo-filamentosa der Retikulozyten basophile Granulation Polychromasie) angewandt.

Zur schnellen Orientierung über die Zahl der vital-färbbaren Erythrocyten (Retikuloeyten) dient am besten die Methylenblaufärbung (*Nägeli*). Man bringt auf den frischen Ausstrich einen kleinen Tropfen einer 2%igen wässrigen Lösung von Methylenblau medicale deckt mit einem Deckglas zu und untersucht nach einigen Minuten mit der Ölimmersion.

Oxydase-Darstellung nach *Frankler Schultze*

Die Präparate werden fünf Minuten in 4%iger Formollösung fixiert worauf sie in eine filtrierte Mischung von folgender Zusammensetzung kommen: gleiche Teile 1%ige Lösung von α Naphthol in 70%igem Alkohol und 1%ige wässrige Lösung von Dimethylparaphenylendiaminbase (*Merck*). Man läßt die Mischung ungefähr fünf Minuten einwirken bei älteren Lösungen kürzere Zeit. Die Gegenfärbung erfolgt mit einer 1%igen wässrigen Safraninlösung etwa drei Sekunden. Die Oxydase enthaltenden Granula färben sich dunkelblau. Die Präparate sind nicht haltbar.

Die Peroxydasereaktion nach *Sato*

Der Blutaussstrich muß vollständig trocken sein. Man tropft auf das Präparat eine 0.5%ige Kupfersulfat

lösung gießt diese nach 30 Sekunden ab und ersetzt sie durch eine Benzidinlösung folgender Zusammensetzung Benzidin 0·1 Aqua dest. 100·0 filtrieren dazu zwei Tropfen 3%iger H_2O_2) Nach zwei Minuten gießt man ab spült vorsichtig mit Aqua dest. ab und färbt zwei Minuten mit 1%iger wässriger Safraninlösung nach. Hierauf vorsichtiges Spülen und Trocknen im Brutschrank (kein Fließpapier) Die Fermentgranula sind blaugrün die Zellkerne schwach rot gefärbt.

Nach Moschkowski kann die Peroxydosereaktion folgenderweise vereinfacht werden

1 Fixation in 90% Alkohol drei Minuten.

2 Färbung nach Giemsa wobei zur Verdünnung des Farbstoffes eine frisch hergestellte Benzidin Perhydrol Lösung benutzt wird. (Auflösen durch kräftiges Schütteln einiger winziger Benzidinkristalle in Wasser Abfiltrieren auf je 2 cm^3 Filtrat ein Tropfen 30 fach verdünntes Perhydrol hinzufügen)

Die Granula der Eosinophilen und Neutrophilen färben sich goldgelb bis gelbbraun die Lymphocyten und Basophilen sind negativ die Monocyten und Myeloblasten sind positiv

Der Fermentnachweis (Oxydase- und Peroxydase-reaktion) wird in der Praxis hauptsächlich zur Unterscheidung zwischen den Zellen der lymphatischen und myelischen Reihe angewandt. Erstere zeigen bei diesen Reaktionen ein negatives Verhalten während die Myelocyten und Myeloblasten positiv reagieren

Über die Färbung des dicken Tropfens
s. S. 376

Kurze Morphologie der Blutzellen.

Normale Blutzellen (Tafel XVI)

a) Normale rote Blutkörperchen (Normocyten) stellen kreisrunde Scheiben mit einer zentralen Vertiefung (Delle) dar die Zellen sind kerulos und bestehen aus

einem Stroma welches das Hämoglobin enthält ihre mittlere Größe ist 7 bis 7,5 μ im Durchmesser. Bei der May und Grünwaldschen sowie bei der Giemsa und Leishman färbung färben sie sich hellrosarot. Im frischen Präparat zeigen sie einen stark gelben Farbenton.

Als Retikuloeyten bezeichnet man rote Blutkörperchen die bei der Vitalfärbung Punkte, Stippchen, Körnchen verschiedener Größe enthalten. Das normale Blut enthält 1 bis 5% dieser Zellen. Biologisch entsprechen sie jungen Zellen. Sie sind daher vermehrt bei allen Zuständen mit reaktiver Hyperfunktion des Knochenmarkes (hämolytische Anämien, Perniziosa nach Röntgen und Radiumbestrahlungen usw.). Die Zählung der Retikuloeyten wird in dem vital gefärbten Präparat vorgenommen. Unter Benutzung des Ehrlichschen Okulars werden etwa 500 rote Blutkörperchen gezählt und dabei die Zahl der Retikuloeyten notiert. Man rechnet auf 100 um.

b) Lymphocyten sind Zellen von der Größe der roten Blutkörperchen, zum Teil auch etwas größer, mit einem schmalen homogenen Protoplasma und einem kugelförmigen Kern, der fast die ganze Zelle ausfüllt. Der Kern zeigt nicht selten leichtere Einbuchtungen. Bei der Giemsa und Leishmanfärbung erscheint der Kern tiefblau, das Protoplasma hellblau gefärbt. In dem letzteren finden sich nicht selten sogenannte azurophile Granulationen. Die Lymphocyten bilden etwa den vierten Teil aller normalen zirkulierenden Leukocyten.

c) Die großen Lymphocyten unterscheiden sich von den gewöhnlichen durch ihre Größe. Sie finden sich im Blute junger Kinder in der Norm bis zu 10%. Bei gesunden Erwachsenen findet man sie nicht. Dagegen bilden sie einen häufigen Befund bei der akuten und lymphatischen Leukämie.

d) Die neutrophilen polynucleären (polymorphkernigen) Leukocyten sind zwei

oder einen polymorphen Kern. Der Name (polynucleäre) für diese Zellen besteht eigentlich zu Unrecht, da der Kern meist eine stabförmig gewundene Gestalt hat und in einzelne Segmente zerfällt, die durch schmale Brücken verbunden sind. Die Zellen werden daher auch als segmentierte (Segmentkernige) bezeichnet. Ein Teil der neutrophilen hat einen nicht segmentierten stabförmigen Kern von S- L oder U Form. Diese Zellen bilden im normalen Blute etwa 3 bis 5% der normalen neutrophilen. Das Protoplasma enthält deutliche Granulationen. Die Granula sind meist sehr klein. Bei der *May-Grünwaldschen* Leishman und Giemsa-Färbung erscheint der Kern blau die Granula rosa rot oder violett das Zellprotoplasma ist schwach rosa gefärbt (*Giemsa*) oder bleibt farblos (*Leishman*). Sie bilden den Hauptbestandteil (zirka 70%) der normalen Leukocyten. Bei infektiös-toxischen Erkrankungen erleiden die neutrophilen Leukocyten folgende Veränderungen a) Größenunterschiede es treten sehr große (Riesenformen) seltener Zwergformen auf b) Veränderung der Granulation es treten grobe klumpige Körner von dunkler bis schwarzer Farbe auf. Diese Granulationen zeigen eine Ähnlichkeit mit den basophilen c) es treten Vakuolen im Protoplasma auf. d) am häufigsten sieht man Veränderungen des Kernes, und zwar Verminderung der Zahl der Segmente Vermehrung der stabkernigen (vgl. S. 326) Auftreten jugendlicher Formen und Myelocyten.

a) Acidophile oder eosinophile Leukocyten sind schon in ungefärbtem Zustande durch ihre groben hellglänzenden runden Granula im Protoplasma leicht zu erkennen. Wie ihre Bezeichnung zeigt nehmen die Granula jeden sauren Farbstoff auf und färben sich daher bei der Giemsa-Färbung sowie nach *May-Grünwald* und *Leishman* tiefrot. Die eosinophilen Zellen des normalen Blutes sind polynucleär oder polymorphkernig. Es finden sich im normalen Blute 2 bis 4% dieser Zellen. Sie sind vermehrt bei myeloider Leukämie, Skarlatina, Asthma, Helminthiasis

Heufieber Emphysem manchen Hautkrankheiten besonders stark bei Trichinose. Es sind auch Fälle von erblicher Eosinophilie beschrieben worden. Sie sind vermindert bis zum Verschwinden bei schweren Infektionen (besonders Typhus, Pneumonie Diphtherie Recurrens bacillärer Dysenterie Masern)

f) **Basophile Leukocyten oder Mastzellen** Das Protoplasma der Zellen enthält grobe Granula von der Größe der eosinophilen die aber nicht immer so rund und auch nicht von gleichmäßiger Form sind. Diese Granula zeigen eine stark ausgesprochene Affinität zu basischen Farbstoffen (Methylenblau) sie färben sich daher nach *May-Grünwald Giemsa* und *Leishman* dunkelblau.

Die Mastzellen des normalen Blutes sind mehrkernig, von der Größe der neutrophilen Leukocyten zuweilen auch kleiner. Sie finden sich im normalen Blute nur in sehr geringer Anzahl (0,5%)

g) **Monocyten** Diese Gruppe umfaßt zwei Zelltypen die große Mononukleäre *Ehrlichs* und die Übergangsform. Nach der neuesten Auffassung sind es nur Variationen derselben Zellart. Die Monocyten sind die größten Zellen des normalen Blutes. Ihr Kern ist entweder rund oder oval mit einer Einbuchtung (die große Mononukleäre) oder gelappt (Übergangsform) doch höchst selten ist die Segmentierung so ausgesprochen wie bei granulierten Leukocyten. Der Kern zeigt eine wolkige Struktur und besteht aus einem dichten Netz von feinen Chromatinfäden. Das Protoplasma ist basophil jedoch bei richtiger Färbung nicht so hellblau wie das Protoplasma der Lymphocyten sondern zeigt mehr einen schmutzigen graublauen Farbenton. Ein perinucleärer heller Hof fehlt vollständig bei den Monocyten. Bei langdauernder *Giemsa* färbung zeigen die normalen Monocyten viele leuchtend azurrote feine Granulationen. Sie geben die Oxydase-reaktion und sind daher mit azurophilen Granulationen der Lymphocyten nicht identisch.

Die Blutplättchen (Taf. XVI Fig. 2) stellen kleine (2 bis 3μ im Durchmesser) viereckige oder runde farblose Gebilde dar. Sie sind oft in Häufchen gelagert und kommen im normalen Blut in großen Mengen vor. Sie bilden sich nach *J. H. Wright* aus den Megakaryocyten des Knochenmarkes und spielen eine wichtige Rolle bei der Blutgerinnung. Sie sind basophil und färben sich nach *Giemsa* und *Leishman* schwach blau zuweilen rötlich; sie enthalten zuweilen einen Innenkörper aus Axurstäbchen und Stüppchen.

Die Zählung der Blutplättchen wird zweckmäßig nach der Methode von *Fowse* ausgeführt. Man nimmt zunächst Blut für die Zählung der roten Blutkörperchen. Hierauf wird die Einstichstelle abgetrocknet, mittels eines Glasfadens, der am Ende ein Knöpfchen hat, bringt man auf die Einstichstelle eben mittelgroßen Tropfen einer 14%igen Magnesiumsulfatlösung, hierauf wird durch einen leichten Druck ein wenig Blut in die Lösung hineingebracht; man taucht jetzt das knopfartige Ende des Glasfadens in die Magnesiumsulfatlösung und verrührt gut die Blutmischung; jetzt wird ein Teil der Mischung mit dem Rande eines Objektträgers aufgenommen und auf einem anderen Objektträger ein Ausstrichpräparat hergestellt. Der Ausstrich kommt auf 24 Stunden in ein geschlossenes Gefäß. Nach Fixierung in Methylalkohol (zwei bis drei Minuten) wird nach *Giemsa* drei bis vier Stunden gefärbt. Das gefärbte Präparat wird mit der Gummendose und Elbskischen Okular untersucht. Die quadratische Öffnung des Okulars wird so eingestellt, daß etwa 20 bis 40 rote Blutkörperchen in ein Gesichtsfeld kommen. In einer großen Reihe von Gesichtsfeldern werden die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen gezählt. Man zählt im ganzen bis etwa 1000 Erythrocyten. Die Blutkörperchen und Blutplättchen, die nur zum Teil im Gesichtsfeld liegen, werden nur am oberen und linken Rande des Quadrates mitgezählt.

Man bestimmt durch diese Zählung das Verhältnis der Blutkörperchen zu den Blutplättchen. Aus dieser Zahl und der absoluten Zahl der roten Blutkörperchen in einem Kubikmillimeter läßt sich leicht die Zahl der Blutplättchen in einem Kubikmillimeter berechnen. Die Zahl der Blutplättchen im normalen Blut beträgt durchschnittlich etwa 250.000 im Kubikmillimeter mit Schwankungen zwischen 200.000 und 350.000. Die Zahl der Blutplättchen ist vermehrt bei Schwangerschaft, nach Blutverlusten, bei Chlorose, Cholera, sowie vermindert bei perniziöser Anämie (Unterschied von sekundärer Anämie), akuten Infektionen (nach Entfieberung vermehrt) und thrombotischer Purpura.

Abnorme und pathologische Blutzellen.

a) Abnorme und pathologische rote Blutkörperchen (Tafel XVII)

1 Poikilocyten sind nicht kreisrund sondern zeigen Birnen, Spindel, Hantel oder Nierenformen. Sie

werden als Teilstücke der normalen Erythrocyten angesehen und finden sich im Blut bei anämischen Zuständen.

2 Makro- und Mikrocyten. Erstere sind größer als die normalen Erythrocyten haben oft eine größere Delle und sind nicht selten polychromatisch. Nach Nägeli muß man sie scharf von den Megalocyten trennen da letztere nur von Megaloblasten stammen und für die perniciöse Anämie charakteristisch sind Morphologisch sind die Megalocyten durch reichlicheren Gehalt an Hämoglobin (Hyperchromie) und bedeutendere Größe charakterisiert

Makrocyten findet man meist bei sekundären (hypochromen) Anämien. Die Mikrocyten sind kleiner als die normalen roten Blutkörperchen und werden im Blut zusammen mit den Poikilocyten gefunden.

Bei verringertem Hämoglobingehalt der Erythrocyten erscheint der zentrale durchsichtige Teil die Delle, vergrößert und es entstehen sogenannte Ring oder Pessarformen der roten Blutkörperchen.

3 Kernhaltige rote Blutkörperchen normaler Größe (Normoblasten) Der Kern ist in der Regel kugelförmig meist exzentrisch gelagert färbt sich sehr intensiv (tiefblau) und zeigt häufig radiär verlaufende Lücken (Radspeichenstruktur) Bisweilen zeigt der Kern Einschnürungen oder nimmt eine Rosettenform an Selten kommen echte Mitosen vor

4 Große kernhaltige rote Blutkörperchen (Megaloblasten und Makroblasten) Sie sind von der Größe der Makro bzw Megalocyten enthalten nicht selten zwei Kerne. Die kernhaltigen Erythrocyten finden sich meist bei schweren Anämien.

Die kernhaltigen roten Blutkörperchen sind die Vorstufen der kernfreien sie finden sich beim erwachsenen normalen Menschen nur im Knochenmark und zwar kommen hier nur meist Normoblasten vor Durch Auflösung des Kernes entstehen Normo- und Makrocyten des zirku-

lierenden Blutes. Diesen Typus der Blutbildung bezeichnet man als **normoblastischen**. Bei perniziöser Anämie findet man im Knochenmark viele Megaloblasten aus denen Megalocyten entstehen (megalocytischer Typus der Blutbildung).

5 **Erythrocyten mit basophiler Granulation** (punktierte). Diese roten Blutkörperchen enthalten in ihrem Protoplasma Granula verschiedener Größe (von Stäubchengröße bis zu einem Viertelnern) die sich mit jedem basischen Farbstoff gut färben lassen. Sie erscheinen also bei allen Färbemethoden als blaue Körnchen. Sie werden bei deutlich ausgesprochenen anämischen Zuständen gefunden (Anämie nach Bleivergiftung).

Zur Feststellung einer Bleivergiftung wird besonders für gewerbehygienische Zwecke die Zählung der punktierten Erythrocyten vorgenommen. Ein Ausstrich des Blutes auf einem Objektträger wird in absolutem Alkohol eine Stunde oder in Methylalkohol fünf Minuten fixiert, hierauf entweder nach *Mayer* oder mit einer wässrigen Anilinfärbung (0.1 auf 200.0) 20 bis 25 Sekunden gefärbt. Man untersucht 200 Gesichtsfelder und notiert die Zahl der punktierten Erythrocyten. Es wird angenommen daß jedes Gesichtsfeld 200 Erythrocyten enthält; in 200 Gesichtsfeldern sind also $200 \times 200 = 40\,000$ rote Blutkörperchen. Es wird festgestellt, wieviel punktierte in einer Million roter Blutkörperchen enthalten sind. Man erhält diese Zahl, wenn man die in 200 Gesichtsfeldern gefundene Zahl mit 25 multipliziert. Eine Bleivergiftung liegt vor wenn mehr als 125 punktierte rote Blutkörperchen auf eine Million Erythrocyten kommen.

6 **Polychromatophile Erythrocyten**. Als polychromatophil werden rote Blutkörperchen bezeichnet die ihre normale Affinität zu sauren Farbstoffen in mehr oder minder starkem Grade eingeblüßt haben und dagegen eine schwache Affinität zu basischen Farbstoffen zeigen. Sie färben sich demnach anstatt hell rosarot bläulichrot oder violett. Man findet sie nicht im normalen Blut, dagegen nicht selten bei verschiedenen anämischen Zuständen. Kernhaltige sowie punktierte rote Blutkörperchen zeigen häufig auch eine ausgesprochene Polychromasie.

Zu den seltener vorkommenden pathologischen Erythrocytenformen gehören

a) **Rote Blutkörperchen mit Jollykörpern**; letztere sind kleine kugelförmige Kernreste die meist vereinzelt in den

Erythrocyten eingeschlossen sind. Bei der Glomsafärbung zeigen sie einen roten Farbenton. Sie erscheinen im Blut in größerer Anzahl nach Millexstirpation. Außerdem findet man sie bei hämolytischem Ikterus.

b) Rote Blutkörperchen mit Cabotschen Ringen. Die Cabotschen Ringe sind Kernwandreste, die bald in Ringform, bald in Schleifen- oder Achterform auftreten.

b) Pathologische Leukocytenformen (Tafel XVII Fig 2 und Tafel XVIII Fig 2)

Als pathologische Formen werden nur diejenigen Leukocyten angesprochen, die in der Norm nur im Knochenmark vorhanden sind und nicht in das kreisende Blut gelangen. Sie werden als unreife Formen als Vorstufen der kreisenden Leukocyten angesehen. Hierher gehören folgende Zellenformen:

1 Myelocyten oder große einkernige Leukocyten mit granuliertem Protoplasma. Der kugelige Kern ist rund, oval oder nierenförmig, relativ groß, blaß färbbar, aber deutlich grobkörnig strukturiert. Das Protoplasma zeigt eine dichte neutrophile, eosinophile oder basophile Körnelung. Diese Zellen bilden den Hauptbestandteil der Zellen des Knochenmarkes. Man findet sie in großer Anzahl im Blut bei myelogenen Leukämien zuweilen auch bei schweren Anämien der Kinder. Nach dem Charakter der Granulationen unterscheidet man neutrophile, eosinophile und basophile Myelocyten. Ist der Kern typisch myelocytär, das Protoplasma aber blaß und dicht gefüllt mit azurophilen Granulationen, so bezeichnet man die Zellen als Promyelocyten.

2 Myeloblasten sind ungranulierte Markzellen, Vorstufen der Myelocyten. Ihr Protoplasma hat einen lymphoiden Charakter, ist schmal, ohne Granulationen. Der Kern ist zartfädig, wolkig und hat zwei bis sechs Nucleolen. Sie treten im Blut bei myeloider Leukämie im Stadium der Erschöpfung in großer Anzahl auf. Sie sind leicht mit den Monocyten zu verwechseln. Letztere zeigen eine intensivere Kernfärbung.

Zur Differenzierung zwischen Myeloblasten und großen Lymphocyten wird die Oxydase, bzw. Peroxydase-

reaktion angesetzt. Ein positiver Oxydasebefund spricht für Myeloblasten. Der negative Ausfall ist nicht beweisend.

Pappenheim teilt die Myeloblasten in zwei Untergruppen ein: er bezeichnet als *Leukoblasten* solche Zellen, die keine Nucleolen im Kern enthalten und nach Beschaffenheit des Kernes also näher zu den Myelocyten stehen als *Lymphocyten*; jüngere Formen mit Nucleolen. Als *Paramyeloblasten* bezeichnet *Nagels* Markzellen von myeloblastischen Typus mit enorm stark gelapptem Kern. Diese Zellen findet man bei akuter myelogener Leukämie. Ihr Auftreten in größerer Anzahl ist prognostisch ungünstig.

3 *Türkische Reizungsformen* sind große Zellen mit stark basophilem Protoplasma und meist exzentrisch gelagertem Kern. Granula fehlen. zuweilen sieht man im Protoplasma Vakuolen. Sie treten vereinzelt auf bei schweren Anämien und Leukocytosen. Ihre Herkunft ist nicht bekannt.

4 *Plasmazellen*. Sie unterscheiden sich von den *Türkischen Reizungsformen* nur dadurch, daß sie kleiner sind als diese und fast immer um den Kern einen hellen Hof zeigen.

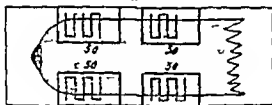
5 *Endothelien*. Lange geschwänzte Zellen mit einem auffallend ovalen exzentrischen feingezzeichneten Kern. Sie stammen teilweise aus der Hautwunde (bei der Blutentnahme aus dem Ohrläppchen). Sie kommen aber nicht selten bei der Endokarditis ulcerosa und schweren Blutinfektionen vor. Sie zeigen mitunter eine große Ähnlichkeit mit den Monozyten.

Bestimmung des Prozentverhältnisses der einzelnen Leukocytenarten (Leukocytläre Formel.)

Das Prinzip beruht darauf, daß man Gesichtsfeld für Gesichtsfeld des Präparates durchgeht und die Zahl der auftretenden Leukocyten nach ihrer Art rubriziert. Bei dieser Untersuchung verschleibt man das Präparat nicht regellos

sondern nach einer bestimmten Richtung und zwar in der Weise daß zunächst die Richtung von links nach rechts sodann von oben nach unten von unten nach links und wieder nach oben verfolgt wird. Es werden so verschiedene Stellen des Präparates durchgesehen. Je nachdem es sich um normales oder pathologisches Blut handelt, legt man eine Tabelle aus sechs oder mehr Rubriken an so daß jede Rubrik eine Vertikalkolonne bildet. Man durchmustert so viel Gesichtsfelder und Präparate, daß die Gesamtsumme der notierten Leukocyten 200 bis 300 ausmacht. Die Berechnung des Prozentgehaltes jeder Zellart geschieht in der Weise daß man die Zahl der Leukocyten dieser Art mit 100 multi-

Fig. 41



(Nach Schilling)

pliziert und durch die Gesamtzahl dividiert. Beispiel: Es kommen auf 210 Leukocyten 70 Lymphocyten. Der Prozentgehalt der Lymphocyten ist demnach

$$\frac{7000}{210} = 33,3\%$$

Schilling empfiehlt die Bestimmung der leukocyitären Formel folgenderweise zu vereinfachen. Man bringt auf das gefärbte Objektträgerpräparat an vier Randstellen Cedernöltropfen, zwei jederseits nahe Anfang und Ende (Fig. 41). Man untersucht das Präparat an jeder der vier Stellen in der Weise, daß das Präparat immer in der Richtung einer Zickzacklinie (Mäanderlinie) verschoben wird, bis 25 bzw. 50 Leukocyten gezählt sind. Die Eintragung in die Rubriken geschieht wie bei der Zählung auf Deckglaspräparaten. Sind alle vier Stellen (zu je 25 Zellen) untersucht, so erhält

man direkt die Prozentwerte für jede Leukocytenart. Sind an jeder Stelle 50 Zellen gezählt so erhält man die Prozentwerte durch Halbierung der notierten Zahlen. Gleichzeitig kann man auch das neutrophile Blutbild bzw seine Verschiebung feststellen. Hierzu werden nach *Schilling* die neutrophilen Leukocyten nach der Beschaffenheit ihres Kernes in vier Untergruppen geteilt (Tafel XVI Fig 2) Zur ersten Gruppe gehören die segmentkörnigen d. h. neutrophilen Leukocyten mit zwei bis fünfteiligen Kernen überhaupt alle Kernformen, die aus getrennten Teilen oder mit Fäden verbundenen Segmenten bestehen. Diese Leukocyten bilden in der Norm den größten Teil der Neutrophilen.

Zur zweiten Gruppe gehören die stabkörnigen Leukocyten das sind neutrophile Leukocyten mit einem langen nicht segmentierten stabförmigen Kern der meist eine Hufeisen oder S-Form zeigt. Die Zahl dieser Zellen übersteigt im normalen Blute nie 5%.

Die Zellen der dritten Gruppe sind im normalen Blute nicht vertreten. Diese sogenannten jugendlichen Formen haben einen dicken wurstartigen Kern wie die Übergangsformen.

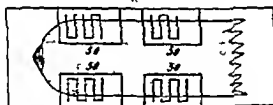
Die vierte Gruppe die Myelocyten treten in spärlicher Anzahl nur bei schweren Krankheitszuständen reichlich dagegen bei myelogener Leukämie auf.

Bei Verschiebung nach links (*Arnsth*) findet man in leichteren Fällen nur eine Vermehrung der stabkörnigen bei schwereren Fällen außerdem noch Auftreten von jugendlichen Formen und Myelocyten.

Die Feststellung einer Verschiebung nach links ist wichtig für die Diagnose und Prognose von Infektionen. Neuerdings sind Fälle von stark ausgesprochener Linkverschiebung bei gesunden Mitgliedern derselben Familie veröffentlicht worden (*Pelgersche* familiäre Kernverschiebung).

sondern nach einer bestimmten Richtung und zwar in der Weise daß zunächst die Richtung von links nach rechts sodann von oben nach unten von unten nach links und wieder nach oben verfolgt wird. Es werden so verschiedene Stellen des Präparates durchgesehen. Je nachdem es sich um normales oder pathologisches Blut handelt, legt man eine Tabelle aus sechs oder mehr Rubriken an, so daß jede Rubrik eine Vertikalkolonne bildet. Man durchmustert so viel Gesichtsfelder und Präparate, daß die Gesamtsumme der notierten Leukocyten 200 bis 300 ausmacht. Die Berechnung des Prozentgehaltes jeder Zellart geschieht in der Weise, daß man die Zahl der Leukocyten dieser Art mit 100 multi-

Fig. 41



(Nach Schilling)

pliziert und durch die Gesamtzahl dividiert. Beispiel Es kommen auf 210 Leukocyten 70 Lymphocyten. Der Prozentgehalt der Lymphocyten ist demnach

$$\frac{7000}{210} = 33\frac{1}{3}\%$$

Schilling empfiehlt die Bestimmung der leukocyitären Formel folgenderweise zu vereinfachen. Man bringt auf das gefärbte Objektträgerpräparat an vier Randstellen Cedernöltropfen, zwei jederseits nahe Anfang und Ende (Fig. 41). Man untersucht das Präparat an jeder der vier Stellen in der Weise, daß das Präparat immer in der Richtung einer Zickzacklinie (Mäanderlinie) verschoben wird, bis 25 bzw. 50 Leukocyten gezählt sind. Die Eintragung in die Rubriken geschieht wie bei der Zählung auf Deckglaspräparaten. Sind alle vier Stellen (zu je 25 Zellen) untersucht, so erhält

man direkt die Prozentwerte für jede Leukocytenart. Sind an jeder Stelle 50 Zellen gezählt so erhält man die Prozentwerte durch Halbierung der notierten Zahlen. Gleichzeitig kann man auch das neutrophile Blutbild bzw. seine Verschiebung feststellen. Hierzu werden nach *Schilling* die neutrophilen Leukocyten nach der Beschaffenheit ihres Kernes in vier Untergruppen geteilt (Tafel XVI, Fig. 2). Zur ersten Gruppe gehören die segmentkörnigen d. h. neutrophilen Leukocyten mit zwei bis fünfteiligen Kernen überhaupt alle Kernformen die aus getrennten Teilen oder mit Fäden verbundenen Segmenten bestehen. Diese Leukocyten bilden in der Norm den größten Teil der Neutrophilen.

Zur zweiten Gruppe gehören die stabkörnigen Leukocyten das sind neutrophile Leukocyten mit einem langen nicht segmentierten stabförmigen Kern der meist eine Hufeisen- oder S-Form zeigt. Die Zahl dieser Zellen übersteigt im normalen Blute nie 5%.

Die Zellen der dritten Gruppe sind im normalen Blute nicht vertreten. Diese sogenannten jugendlichen Formen haben einen dicken wurstartigen Kern wie die Übergangsformen.

Die vierte Gruppe die Myelocyten treten in spärlicher Anzahl nur bei schweren Krankheitszuständen reichlich dagegen bei myelogener Leukämie auf.

Bei Verschiebung nach links (*Arnel*) findet man in leichteren Fällen nur eine Vermehrung d. stabkörnigen bei schwereren Fällen außerdem noch Auftreten von jugendlichen Formen und Myelocyten.

Die Feststellung einer Verschiebung nach links ist wichtig für die Diagnose und Prognose von Infektionen. Neuerdings sind Fälle von stark ausgesprochener Linkverschiebung bei gesunden Mitgliedern derselben Familie veröffentlicht worden (*Pelgersche* familiäre Kernverschiebung).

Differentialbild der weißen Blutkörperchen

	Normal
1 Basophile	0·0—1·0
2 Eosinophile	2·0—4·0
3 Myeloblasten	0
4 Myelocyten	0
5 Neutrophile Jugendliche	0
6 Neutrophile Stabkernige	3·0—5·0
7 Neutrophile Segmentkernige	58·0—66·0
8 Lymphocyten	20·0—30·0
9 Monocyten	4·0—8·0

Die wichtigsten Veränderungen des Blutbildes bei verschiedenen Krankheiten.

Die Anämien.

Man versteht unter Anämie einen krankhaften Zustand bei dem entweder der Hämoglobingehalt allein vermindert ist (Oligochromämie) oder daneben auch die Zahl der roten Blutkörperchen herabgesetzt ist (Oligocythämie)

Als sekundäre Anämien bezeichnet man solche anämische Zustände die im Verlaufe verschiedenartiger Krankheiten als Begleiterscheinungen auftreten. So beobachtet man sekundäre Anämien nach akuten und chronischen Blutverlusten bei verschiedenen Vergiftungen bei Infektionskrankheiten bei manchen Konstitutionskrankheiten bei bösartigen Geschwülsten usw. Diesen Anämien werden solche entgegengesetzt bei denen die Veränderung des Blutes offenbar das Wesen der Krankheit darstellt und im Vordergrund des klinischen Bildes steht. Hierher gehört in erster Linie die perniziöse Anämie.

Für sekundäre Anämien sind folgende Veränderungen des Blutbildes charakteristisch. Der Hämoglobingehalt ist relativ stärker herabgesetzt als die Zahl der Erythrocyten. Der Färbeindex ist daher

kleiner als 1·0 er kann bis zu 0·25 sinken. Die Erythrocyten sind blaß ihre Delle ist größer als in der Norm. Es treten Mikrocyten und Polkilocyten Ring- und Pessarformen in ziemlich reichlicher Anzahl auf. Es finden sich bei schweren Blutverlusten auch vereinzelt Normoblasten und polychromatophile Erythrocyten. Die Zahl der Leukocyten ist normal oder leicht vermehrt. Die Blutplättchen sind vermehrt. Für Anämien nach Bleivergiftungen ist charakteristisch das Auftreten der punktierten roten Blutkörperchen in ziemlich reichlicher Anzahl.

Eine besondere Stellung nimmt die Chlorose ein. Dieser anämische Zustand bietet ein einheitliches scharf definiertes Krankheitsbild das ausschließlich beim weiblichen Geschlecht vorkommt und in den Pubertätsjahren auftritt. Nach dem Blutbefund allein kann diese Krankheit nicht diagnostiziert werden da für sie nur die klinischen Symptome charakteristisch sind. Die Veränderung des Blutes besteht bei leichten Fällen nur in einer Herabsetzung des Hämoglobingehaltes bei schwereren Fällen zeigt das Blut dieselben Veränderungen wie bei sekundären Anämien. Sehr häufig wird eine ausgesprochene Mikrocytose gefunden.

Perniziöse Anämien. Bei diesen Krankheiten deren wichtigster Repräsentant die Biermersche Anämie ist sind die Veränderungen des Blutes am stärksten ausgesprochen. Die Zahl der roten Blutkörperchen ist stark vermindert sie kann bis zu 1 000 000 in besonders schweren Fällen noch niedriger sinken (100 000!). Ebenso stark kann der Hämoglobingehalt herabgesetzt sein (bis auf 10%). Das Charakteristische aber ist das Verhalten des Farbindex. Er ist bei perniziöser Anämie fast immer nahe 1·0 oder größer als 1·0 und dadurch unterscheidet sie sich wesentlich von der sekundären Anämie die roten Blutkörperchen erscheinen bei der perniziösen Anämie gut gefärbt meist intensiver als in der Norm (Hyperchromie). Man bezeichnet daher diese Anämien auch als hyperchrome.

Die Zahl der Leukocyten ist vermindert (zwischen 1500 und 4000) Im gefärbten Präparat fällt zunächst die starke Anisocytose mit Megalocyten und Hyperchromie auf Außerdem finden sich Poikilocyten polychromatophile punktierte Erythrocyten Normoblasten und was besonders charakteristisch ist, Megaloblasten. Jedoch können und zwar bei den klinisch schwersten Fällen die kernhaltigen sowie punktierten Erythrocyten vollständig fehlen Nach Nägeli sind die Hyperchromie und die megalocytische Anisocytose die wichtigsten Merkmale der Perniciosa, sie allein sind schon für die Diagnose ausreichend. Die Blutplättchen sind stark vermindert oder fehlen vollständig

Polyglobulie (Polycythämie, Erythrämie, Morbus Vaquez)

Die Zahl der roten Blutkörperchen ist vermehrt (über 6 000 000 in seltenen Fällen erreicht sie 13 000 000) Der Hämoglobingehalt bleibt relativ hinter der Erythrocytenzahl zurück so daß der Farbeindex immer kleiner ist als 1.0 der höchste bis jetzt beobachtete Hämoglobingehalt war 240% es kommen nicht selten polychromatophile rote Blutkörperchen vor auch vereinzelt Normoblasten. Die Leukocytenzahl kann normal sein in manchen Fällen ist sie vermehrt. Meist findet man eine relative Verminderung der Lymphocyten nicht selten eine Vermehrung der Eosinophilen. In einzelnen Fällen sind neutrophile Myelocyten in geringer Anzahl gefunden worden Blutplättchen sind stets in reichlicher Anzahl vorhanden Die Krankheit nimmt häufig einen schweren Verlauf.

Eine symptomatische Vermehrung der roten Blutkörperchen findet man bei unkompensierten Herzfehlern auch bei Kohlenoxydvergiftung Es kann auch eine physiologische Vermehrung der Erythrocyten (z. B. nach starken Schwitzprozeduren nach besonders starken Muskelanstrengungen) beobachtet werden. Nach Hirschfeld werden die symptomatischen und physiolo-

gischen Vermehrungen der Erythrocyten als Erythrocytosen bezeichnet während die Blutkrankheit Erythraemie genannt wird.

Leukämien (Leukosen)

Unter Leukämien versteht man Blutkrankheiten bei welchen eine Wucherung der Gewebe stattfindet die an der Bildung der weißen Blutkörperchen beteiligt sind. Man unterscheidet zwei Formen von Leukämien die myeloide und die lymphatische Leukämie*). Bei der ersteren betrifft die Wucherung das Knochenmarksgewebe wobei größtenteils unreife Leukocyten d. h. Myelocyten und Myeloblasten sich besonders stark vermehren daher beherrschen bei dieser Form der Leukämie diese unreifen Formen das Blutbild. Bei der lymphatischen Leukämie ist hauptsächlich das lymphatische Gewebe an der Wucherung beteiligt und auch im Blute findet man daher eine stark ausgesprochene absolute und relative Vermehrung der Lymphocyten. Die Leukocyten sind bei der myeloiden Leukämie stets stark vermehrt man findet oft mehrere Hunderttausend im Kubikmillimeter. Die prozentuelle Zusammensetzung der Leukocyten ist im Beginn dieser Krankheit derart, daß in überwiegender Anzahl normal polymorphkernige neutrophile Leukocyten gefunden werden. Myelocyten (hauptsächlich neutrophile) sind in verhältnismäßig geringer Anzahl vorhanden. In vorgeschrittenen Stadien der Krankheit nimmt die Zahl der Myelocyten und Myeloblasten immer mehr zu so daß sie schließlich das Blutbild beherrschen.

Die roten Blutkörperchen zeigen in Fällen wo keine Anämie vorhanden ist nur eine leichte Herabsetzung der Gesamtzahl auch der Hämoglobingehalt kann leicht vermindert sein. Fast immer sind Normoblasten vorhanden seltener Megaloblasten bei hinzutretenden Anämien findet man außerdem Poikilocytose Anisocytose und Polychromasie.

*) Die Existenz einer Monocytenleukämie ist nach Virchow unbewiesen. Es handelt sich in den betreffenden Fällen entweder um Monocytosen oder um monocytäre Myeloblastenleukämien.

Die lymphatische Leukämie (leukämische Lymphadenose) (Tafel XV, Fig. 2) zeigt in bezug auf die Zahl der weißen Blutkörperchen ähnliche Verhältnisse wie die myeloide Leukämie (oft weit über 100 000 bis 600 000). Es überwiegen Lymphocyten so daß die Differentialzählung bis 90% und mehr Lymphocyten ergibt und nur wenige Prozent granulierter Leukocyten unter denen hauptsächlich die neutrophilen überwiegen. Die Lymphocyten sind meist vom Typus der kleinen Lymphocyten es finden sich viele in Zerfall begriffene schattenartige Lymphocyten (*Gumprechtsche Schatten*). Seltener beobachtet man Leukämien bei denen die großen Lymphocyten das Gesichtsfeld beherrschen. Ganz vereinzelt stehen Fälle mit Lymphocyten vom Typus der Plasmazellen.

Auch bei der lymphatischen Leukämie kommen Normoblasten vor. Im übrigen zeigen die roten Blutkörperchen in unkomplizierten Fällen keine Abweichungen von der Norm.

Außer den Leukämien findet man eine Vermehrung der Leukocyten im Blut bei verschiedenen Zuständen bei denen eine Erkrankung der blutbildenden Organe nicht vorliegt. Es handelt sich in diesen Fällen um einfache Leukocyosen. Die Zahl der weißen Blutkörperchen schwankt dabei zwischen 8 000 und 50 000 selten erreicht sie 80 000. Der wesentliche Unterschied zwischen Leukämien und Leukocyosen besteht darin daß bei ersteren eine Wucherung der blutbildenden Organe (Knochenmark, Lymphdrüsen) vorliegt während es sich bei den Leukocyosen nur um Veränderungen der Leukocyten des kreisenden Blutes handelt die als Folge von Reizwirkungen auf die hämatopoetischen Organe oder auf das Blut selbst entstanden sind. Man spricht von regenerativen Veränderungen an den Leukocyten wenn das Knochenmark zur funktionellen Mehrleistung gereizt wird so daß eine Abgabe unfertiger Elemente (Jugendliche, Stabkernige) in den Kreislauf herbeigeführt wird. Die Zellen sind dabei nicht geschädigt und

zeigen ihre normale Struktur Regenerative Leukocyten findet man bei Gravidität nach Blutungen und auch nach Infektionskrankheiten. Bei den degenerativen oder infektionstoxischen Veränderungen der Leukocyten handelt es sich um Schädigungen der Zellen während ihrer Bildung im Knochenmark und auch später in der Blutbahn. Durch die Einwirkung der Gifte wird der Reifungsprozeß der Zellen gehemmt es zeigen sich nicht nur Veränderungen am Kern (Wurst und Stabkerne und verklumpte Kerne) sondern erhebliche Veränderungen des Protoplasmas grobkörnige Granulationen mit mehr basophilem Charakter Vakuolisierung Veränderungen der Größe der Zellen sehr kleine und große Leukocyten. Diese Veränderungen beziehen sich nur auf die neutrophilen Leukocyten. Die toxisch degenerativen Veränderungen der neutrophilen Leukocyten beobachtet man bei Infektionen die durch Streptokokken Meningokokken Pneumokokken Colibacillen oder Staphylokokken hervorgerufen werden. Bei diesen Infektionen finden wir also außer der sogenannten Linksverschiebung auch toxische Veränderungen an den Leukocyten, während bei regenerativer Leukocytose nur eine Linksverschiebung zu beobachten ist.

Aleukämische Leukämien (Pseudoleukämien)

Bei diesen Erkrankungen liegen klinische Erscheinungen vor die eine große Ähnlichkeit mit den Symptomen der echten Leukämien zeigen (Drusenschwellungen Milztumor) es fehlen aber die leukämischen Veränderungen des Blutes.

Man unterscheidet zwei Formen aleukämischer Leukämien eine lymphatische und myeloide

Bei der lymphatischen Form (aleukämische Lymphadenose) ist die Zahl der Leukocyten normal es liegt nur eine relative Lymphocytose vor. Bei der viel selteneren myeloiden Form (aleukämische Myelose) ist ebenfalls die Zahl der Leukocyten nicht vermehrt man findet aber dabei eine nicht geringe Anzahl von Markzellen (Myelo-

cyten) Zu den sogenannten Pseudoleukämien wurden früher Krankheitsformen gezählt deren anatomische Grundlage nicht in einer Hyperplasie des lymphadenoiden Gewebes sondern in einer granulierenden Entzündung des Stromas von Drüsen besteht Als Ursache dieser Entzündung werden verschiedene Infektionserreger angesehen

Man unterscheidet folgende infektiöse Lymphomatosen 1 Die tuberkulöse 2 die syphilitische 3 die Lymphogranulomatose (malignes Granulom *Hodgkinsche Krankheit*). Bei der tuberkulösen sowie luetischen Lymphomatose zeigt das Blutbild keine charakteristischen Veränderungen bei der *Hodgkinschen Krankheit* findet man in vorgeschrittenem Stadium der Krankheit eine sekundäre Anämie, nicht selten eine Leukocytose mit stark ausgesprochener relativer Eosinophilie und Verminderung der Lymphocyten (Lymphopenie) In manchen Fällen sind diese Veränderungen des Blutes nicht vorhanden

Veränderungen des Blutbildes bei Infektionskrankheiten.

Durch Anlegung sogenannter biologischer Leukocytenkurven d. h. Leukocytenformeln mit Zwischenräumen von nur je drei Stunden können nach *Schilling* gesetzmäßige Veränderungen festgestellt werden die für sämtliche Infektionskrankheiten gelten sollen.

Schilling unterscheidet bei Infektionskrankheiten drei verschiedene Phasen 1 die neutrophile Kampfphase die Neutrophilen sind vermehrt und zeigen degenerative Veränderungen Eosinophile fehlen Lymphocyten sind vermindert 2 die monozytäre Abwehrphase die Neutrophilen kehren allmählich zur Norm zurück die Eosinophilen treten wieder auf die Lymphocyten und Monocyten nehmen auffallend zu 3 die lymphocytäre Heilphase Vermehrung der Lymphocyten und Eosinophilen bei zuweilen anfangs noch bestehenden regenerativ verschobenem neutrophilem Blutbild später normales neutrophiles Blutbild. Eine

Leukopenie während der Kampfphase spricht für eine intensive Wirkung und hohe Virulenz der Infektion.

Die Verschiedenheit der infektiösen Blutbilder beruht auf zeitlicher Verschiebung dieser drei Phasen gegen einander und auf der wechselnden Stärke der Reaktion in den einzelnen Gruppen bzw. auf dem Auftreten seltener Zellformen neben ihnen.

Da in der Praxis die Anlegung von biologischen Leukocytenkurven nicht durchführbar ist und die Diagnose und Prognose in den meisten Fällen nur auf Grund von einzelnen Untersuchungen gestellt werden müssen, behalten die aus der Erforschung aufgestellten charakteristischen Besonderheiten des Blutbildes für verschiedene Infektionskrankheiten ihre Gültigkeit. Sie sollen hier kurz skizziert werden.

Typhus abdominalis und Paratyphus. Auf der Höhe der Erkrankung tritt eine ausgesprochene Verminderung der Leukocytenzahl auf (1000 bis 2000), wobei die Eosinophilen fast vollständig verschwinden. Man findet eine relative Lymphocytose. Die Kurve der Monocyten verläuft parallel der Kurve der Neutrophilen. Die Leukopenie ist diagnostisch sehr wichtig. Das Vorhandensein einer Leukocytose und eosinophiler Zellen spricht gegen Typhus. Bei Paratyphus ist die Leukopenie nicht so scharf ausgesprochen wie bei Typhus abdominalis.

Typhus exanthematicus. Bis zum Erscheinen des Exanthems normale Leukocytenzahl, später neutrophile Leukocytose, Lymphopenie und Verschwinden der Eosinophilen.

Febris recurrens. Leukopenie bis zur Entfieberung, später Leukocytose. In den ersten Tagen Lymphopenie, später Lymphocytose.

Scharlach. Leukocytose, nicht selten relative Eosinophilie. Bei septischen Komplikationen verschwinden die Eosinophilen bei weiterem Steigen der gesamten Leukocytenzahl. Die Erscheinung ist prognostisch sehr ungünstig.

Eine besondere Eigentümlichkeit des Scharlachblutes sind die von *Dohle* beschriebenen Einschlüsse der neutrophilen Leukocyten kugel bis stäbchenförmige, manchmal auch spirochätenartige Gebilde die nach *Giemsa* sich bläulich färben. Sie werden als toxische Veränderungen der Zellen angesehen. Starke Verschiebung des neutrophilen Blutbildes nach links. Mononukleose Lymphopenie.

Masern Im Inkubationsstadium mäßige Leukocytose mit relativer Eosinophilie. Mit dem Auftreten des Exanthems tritt eine Leukopenie mit Schwinden der Eosinophilen auf. Bei Komplikationen — dauernde Leukocytose.

Röteln Leukopenie mit vielen Plasmazellen und Neutropenie.

Sepsis Leukocytose mit Verminderung der Eosinophilen. Später kann eine Leukopenie eintreten bei längerem Verlauf — sekundäre Anämie.

Croupöse Pneumonie Leukocytose mit verminderter Zahl der Eosinophilen nach der Krise normale Zahlen der Leukocyten. Bei Empyem Wiederauftreten der Leukocytose.

Variola Leukocytose mit Vermehrung der Lymphocyten (darunter viele große), normale Zahl der Eosinophilen.

Bei allen akuten Infektionskrankheiten findet man stets eine mehr oder weniger ausgesprochene Verschiebung des neutrophilen Blutbildes nach links. Und zwar soll der Grad der Verschiebung proportional der Stärke der Infektion sein. Eine besonders schwere Infektion mit ausgesprochenen Veränderungen des Blutbildes stellt die Angina agranulocytica dar. Die Zahl der Leukocyten sinkt bis zu wenigen Hunderten im Kubikmillimeter wobei die granulierten Zellen fast vollständig fehlen.

In der letzten Zeit sind Fälle von Agranulocytose beobachtet worden nach Behandlung mit Pyramidon. Es soll sich dabei um besondere Disposition handeln.

Von Angininfektionen mit charakteristischem Blutbild seien noch zu erwähnen

1 Anginen mit Eosinophilie — typhusähnliche Infektionen mit Milzschwellung.

2 Lymphocytäre Anginen Klinisch nicht schwere Erkrankungen mit Lymphocytose und diphtherieähnlichen Belägen von ziemlich langer Dauer (zwölf Tage). Häufig sind Lymphdrüenschwellungen zuweilen auch Milz und Leberschwellung zu beobachten. Von akuten lymphatischen Leukämien unterscheiden sich diese Anginen durch das Fehlen von schweren Blutungen.

3 Monocytenanginen (H. Schnitz) verlaufen mit hohem Fieber und diphtherieähnlichen Belägen und Nekrosen die sich nur auf die Tonsillen beschränken. Trotz der langen Dauer — 13 bis 31 Tage — verlaufen die Fälle günstig. Die stets vorhandene Milzschwellung bleibt noch lange bestehen. Die Zahl der Monocyten ist stark erhöht (bis 80%). Die einfachen Anginen zeigen eine mäßige neutrophile Leukocytose (8000 bis 15 000) und dauern gewöhnlich nur drei höchstens sechs Tage nur bei Komplikationen (Eiterungen, Drüseninfektionen usw.) dauert die neutrophile Leukocytose länger.

Auch bei der Diphtherie verläuft die große Mehrzahl der Fälle mit neutrophiler Leukocytose. Postinfektiös tritt hier wie bei den meisten infektiösen Leukocytosen eine Lymphocytose und eine Eosinophilie auf. Plasmazellen kommen auch nicht selten (besonders nach Serumexanthemen) in größerer Anzahl vor.

Grippe. Leukopenie mit toxischen Veränderungen der Neutrophilen. Zuweilen beobachtet man bei Komplikation mit Pneumonie auch Leukocytose.

Taberkulose. Im Anfangsstadium normale Leukocytenzahlen mit relativer Lymphocytose (bis 50%) und mäßiger relativer Eosinophilie (bis 10%) bei fortgeschrittenen Formen Leukocytose mit Verminderung oder Schwinden der Eosinophilen.

Bei eitrigen Prozessen je nach der Intensität mehr oder weniger stark ausgesprochene Leukocytosen.

Wurmkrankheiten 1. *Bothriocephalus latus* Hochgradige Anämie vom Typus der perniziösen (hoher Färbeindex Anisocytose Megaloblasten) Eosinophilie später Leukopenie.

2. *Anchylostoma duodenale*. Leukocytose mit Eosinophilie Anämie von sekundärem Charakter

3. Tännien *Trichocephalus* Ascariden verursachen meist eine Eosinophilie seltener eine sekundäre Anämie

4. *Trichinose*. Stark ausgesprochene Eosinophilie (bis zu 70%) Gelegentlich finden sich Embryonen im Blut. (Man versetzt nach *Sidubli* einige Kubikzentimeter Blut mit einer zehnfachen Menge 3%iger Essigsäure [zur Auflösung der Erythrocyten] zentrifugiert und untersucht bei schwacher Vergrößerung)

5. *Echinokokkua*. Eosinophilie.

Einige andere Erkrankungen.

a) *Basedowsche Krankheit*. In ausgesprochenen Fällen hochgradige relative Lymphocytose (40 bis 70%) Vermehrung der Reticulocyten

b) Die *Bantische Krankheit* zeigt das Blutbild einer sekundären Anämie aber ohne Leukocytose meist besteht sogar eine Leukopenie

c) *Asthma bronchiale*. Eosinophilie besonders während der Zeit der Anfälle

d) *Maligne Tumoren*. Sarkome verursachen selten Veränderungen des Blutbildes Carcinome bedingen eine Anämie die entweder durch Blutverluste (Magen Uteruscarcinom) oder durch die von Carcinomgewebe ausgehenden Cifte verursacht ist. Die Anämie kann auch durch hinzutretende Infektionen hervorgerufen werden. Die Anämie zeigt den Charakter einer sekundären Ein besonderes Blutbild kann bei Knochenmarkcarcinose auftreten. Es findet sich dabei das Bild einer perniziösen

2 Durch Ausfällung mit Wolframsäure (nach *Folin*) Diese Methode wird nur zur Bestimmung des Reststickstoffes im Gesamtblut angewandt. Das Blut muß durch Zusatz von Natriumfluorid oder Kaliumoxalat (letzteres in einer Menge von 20 mg auf 10 cm³ Blut) ungerinnbar gemacht werden. Man mißt mit einer Pipette 2 cm³ Blut ab, bringt es in ein 50 cm³ fassendes mit einem gut schließenden Stopfen versehenes Fläschchen, setzt 14 cm³ Wasser, 2 cm³ einer 10%igen Lösung von Natriumwolframat zu, mischt die Flüssigkeit gut durch und fügt 2 cm³ $\frac{1}{2}$ n Schwefelsäure (hergestellt durch Mischen von zwei Teilen n H₂SO₄ und einem Teil destilliertem Wasser) hinzu. Infolge der Freisetzung der Wolframsäure tritt Koagulation des Eiweißes ein. Es wird gut umgerührt und durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäß filtriert. Vom Filtrat wird zur Reststickstoffbestimmung 10 cm³ entsprechend 10 cm³ Blut benutzt.

3 Enteiweißung durch kolloidales Eisenhydroxyd. Diese Enteiweißungsmethode eignet sich für die Reststickstoffbestimmung im Serum.

Man bringt in einen 100-cm³-Meßkolben 2 cm³ Serum, setzt ungefähr 50 cm³ destilliertes Wasser hinzu und 5 cm³ chlorfreies Eisenhydroxyd (*Ferrum oxydatum dialysatum*). Man rührt gut um, setzt 2 cm³ einer gesättigten Magnesia-sulfatlösung hinzu, wonach die Eiweißausscheidung sich vollzieht. Man füllt mit destilliertem Wasser bis zur Marke, schüttelt gut durch, läßt 15 Minuten stehen und filtriert trocken. Man verwendet zur Reststickstoffbestimmung 50 cm³ des Filtrates entsprechend 10 cm³ Serum.

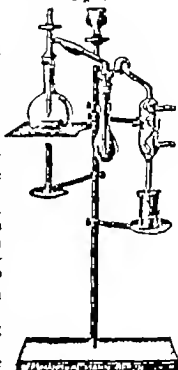
Bei jeder Enteiweißungsmethode soll das Filtrat auf Eiweißfreiheit geprüft werden.

Ausführung der Stickstoffbestimmung. Für die Bestimmung wird ein Destillierapparat benutzt (Fig. 42), der aus einem Kolben zur Erzeugung des Wasserdampfes, Kjeldahlkolben, Kühler und Becherglas für die Vorlage besteht. Der Apparat enthält keine

Gummiverbindungen Die Teile sind Glas zu Glas ange-
schlossen. Man bringt das erweißtere Filtrat (entsprechend
 1.0 cm^3 Blut oder Serum) in den Kjeldahlkolben setzt 2 cm^3
reiner Schwefelsäure etwa 0.5 g Kaliumsulfat und drei bis
fünf Tropfen einer 5% igen Kupfersulfatlösung hinzu. Man
erhitzt das Kölbchen auf einem Sandbad unter dem Abzug.

Nachdem das Wasser verdampft
ist tritt eine Schwärzung der
Flüssigkeit ein. Bei weiterem Er-
hitzen entfärbt sie sich wieder.
Jetzt wird die Flamme ausge-
dreht man läßt die Flüssigkeit
abkühlen. Hernach wird der Am-
moniak (aus dem gebildeten
Ammonsulfat) abdestilliert. Man
bringt in den Kjeldahlkolben etwa
 10 bis 15 cm^3 destilliertes Wasser
und verbindet ihn mit der Vorlage
und Destillationskolben und er-
hitzt das destillierte Wasser im
Kolben bis zum Sieden (das
Wasser wird mit einem Tropfen
Schwefelsäure angesäuert). Vorher
bringt man in die Vorlage 10 cm^3
 $\frac{1}{10}$ -n H_2SO_4 . Jetzt gießt man
durch den Trichter in den Kjehl-
dahlkolben 33% ige NaOH Lösung
(Kjeldahlange) bis die Flüssig-
keit im Kolben eine blass blaue Farbe
angenommen hat. Der Dampf

Fig. 49



passiert den Kjeldahlkolben und gelangt durch den Kühler in
die Vorlage. Das Abflußrohr des Kühlers muß in die Flüssig-
keit der Vorlage tauchen. Nach einer Destillation von
zehn Minuten wird das Becherglas etwas heruntersgesetzt
so daß die Tropfen in die Vorlageflüssigkeit herunter-
fallen. Nach weiteren fünf Minuten prüft man mit
rotem Lakmuspapier auf Alkali. Ist kein Alkali vorhanden

so ist die Destillation beendet. Sonst wird weiter destilliert. Nach beendeter Destillation titriert man die Flüssigkeit nach Zusatz von einem Tropfen Methylrot (Methylrot 0.1 in 300 cm^3 90%igem Alkohol lösen und 200 cm^3 destilliertes Wasser hinzufügen) mit $\frac{1}{50}$ n Na OH (frisch herstellen!). Die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter werden von 10.0 abgezogen und der Rest mit 0.28 mg multipliziert. Man erhält den Gehalt an Reststickstoff in der untersuchten Blut bzw. Serummenge. Man rechnet auf 100 cm^3 nm. Es ist notwendig von Zeit zu Zeit einen leeren Versuch anzustellen um die Branchbarkeit der Reagenzien zu kontrollieren.

b) Vereinfachte colorimetrische Mikromethode (nach Kowarski)

Bei dieser Methode wird die umständliche Destillation vermieden. Der Ammoniakgehalt wird durch direkte Neßlerisation colorimetrisch mittels eines Komparators festgestellt. Durch einen besonderen Aufsatz auf den Kjeldahlkolben werden die sauren Dämpfe in konzentrierte Natronlauge abgeleitet und auf diese Weise der Abzug ersetzt.

Reagenzien 1 Eine 45%ige Zinksulfatlösung. Die Lösung wird zum Gebrauch auf das 100fache verdünnt. 2 0.1-n-Natriumhydratlösung. 3 Reine ammoniakfreie Schwefelsäure (spezifisches Gewicht 1.84). 4 5%ige Kupfersulfatlösung. 5 Kaliumsulfat, gepulvert (Kahlbaum, zur Analyse). 6 Standardlösung, 0.472 g Ammoniumsulfat (chem. rein) werden in einem Meßkolben von 100 cm^3 in Wasser aufgelöst bis zur Marke aufgefüllt und durchgeschüttelt. Diese Lösung enthält 1 mg Stickstoff in 1 cm^3 . Aus dieser Lösung wird eine zehnfache Verdünnung hergestellt. 1 cm^3 dieser Verdünnung enthält also 0.1 mg Stickstoff. 7 Nessler's Reagens wird nach der Vorschrift von Folin und Wu hergestellt. 80 g Jodkali und 22 g Jod werden mit 20 cm^3 Wasser in eine starke Flasche von ungefähr 100 cm^3 Inhalt eingefüllt, hierzu 80 g metallisches Quecksilber hinzugefügt und fünf bis zehn Minuten stark geschüttelt bis die dunkle Farbe sich in eine hellere umwandelt. Die heiße Lösung wird in fließendem Wasser abgekühlt und weiter geschüttelt bis die Farbe grünlich geworden ist. Die Flüssigkeit wird jetzt von dem ungelösten Quecksilber abgeseigt, es wird mehrfach mit destilliertem Wasser nachgespült und schließlich auf 400 cm^3 aufgefüllt. Aus dieser Stammlösung wird das Nessler'sche Reagens so hergestellt, daß zu 75 cm^3 der Stammlösung 75 cm^3 destillierten Wassers und 350 cm^3 einer 10%igen carbonatfreien Natriumhydratlösung (Natrium hydricum pro Analyse)

hinzugefügt werden. Die Lösung muß einige Tage stehen, damit sie nach Absetzen des Niederschlages klar wird. Der Niederschlag ist von rost brauner Farbe. Beim Gebrauch darf sie nicht aufgewirbelt werden. Für den Versuch soll nur die klare Flüssigkeit benutzt werden. Durch einen blinden Versuch (5 cm^3 1%iger Schwefelsäure + 2 cm^3 des *Niederschlag* Reagens) wird die Reinheit der Schwefelsäure kontrolliert; es darf dabei keine gelbe Färbung auftreten. 8 30% Natroudlauge.

Zur Bestimmung des Reststickstoffes im Blute bringt man in ein Reagenzglas 5 cm^3 der verdünnten Zinksulfatlösung und 1 cm^3 0.1-normaler Natriumhydratlösung. Es entsteht eine kolloidale Lösung von Zinkhydrat. Zu dieser Lösung werden 0.25 cm^3 des zu untersuchenden Vollblutes oder Serums hinzugefügt. Man spült die Pipette

Fig. 43

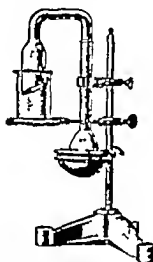


Fig. 44

Apparat zur Reststickstoffbestimmung nach *Kjeldahl*

mit der im Reagenzglas befindlichen Lösung zweif- bis dreimal aus und bläst sie leer. Jetzt stellt man das Reagenzglas auf drei Minuten in ein siedendes Wasserbad. Inzwischen bringt man in einen kleinen Trichter (4 cm^3 Durchmesser) einen kleinen Wattebausch und wäscht ihn dreimal mit je 10 cm^3 heißen destillierten Wassers aus. Das Auswaschen ist notwendig, da es sich gezeigt hat, daß in der Watte Spuren von Ammoniak enthalten sind. Hierauf setzt man den Trichter auf einen Kjeldahlkolben aus Jenaer Glas von 50 cm^3 Inhalt. Nachdem die drei Minuten vorbei sind, wird der Inhalt des Reagenzglases auf das Wattefilter gegossen, worauf ein ganz klares Filtrat entstehen muß. Man wäscht das Reagenzglas zweimal mit je 2 cm^3 destillierten Wassers ab und gießt diese ebenfalls auf das Filter. Man läßt gut abtropfen und entfernt den Trichter. Nunmehr setzt man zu der Flüssigkeit im Kjeldahlkolben hinzu: 0.5 cm^3 reiner Schwefelsäure (genau

abgemessen hierzu wird eine Pipette mit Gummischlauchansatz benutzt, einen Tropfen 5%ige Kupfersulfatlösung und eine kleine Messerspitze (etwa 0.1 g) Kaliumsulfat. Anstatt 0.5 cm³ reiner Schwefelsäure kann man auch 5.0 cm³ einer 10%igen Schwefelsäurelösung anwenden. Der Kolben wird jetzt in vertikaler Lage auf einem Sandbad am Stativ befestigt und mittels eines Bunsenbrenners erhitzt. Man läßt die Flüssigkeit so lange kochen bis sie zu einem Volumen von 1 bis 2 cm³ eingedampft ist worauf die Schutzvorrichtung aufgesetzt wird da der lastigen Dämpfe erst nach dem vollständigen Verdunsten des Wassers sich ausscheiden beginnen. Die glockenartige Erweiterung wird in die Natronlauge nur so weit eingetaucht daß etwa ein Drittel des schräg abgeschnittenen Randes die Flüssigkeit überragt. Der Innenraum des Kolbens wird auf diese Weise nicht hermetisch abgeschlossen, womit die Entstehung eines negativen Druckes vermieden wird. Trotzdem entweichen die sauren Dämpfe nicht nach außen, da sie von der Oberfläche der konzentrierten Lauge absorbiert werden während der Rest des Wasserdampfes durch die Öffnung sich ausscheiden kann. Man erhitzt so lange, bis die anfangs geschwarzte Flüssigkeit sich vollkommen entfärbt hat. Die Entwicklung der sauren Dämpfe nimmt dabei allmählich ab. Das Erhitzen dauert im ganzen, je nach der Stickstoffmenge etwa 10 bis 20 Minuten. Man dreht hierauf den Brenner aus und läßt langsam abkühlen. Inzwischen wird die Vergleichsflüssigkeit hergestellt: In ein 50 cm³ fassendes Meßkolbchen bringt man genau 1 cm³ der verdünnten Standardlösung, 0.5 cm³ Schwefelsäure, füllt mit destilliertem Wasser bis zur Marke und schüttelt gut durch*). Jetzt wird von dem abgekühlten Kjeldahlkolben die Schutzvorrichtung abgenommen und unter Umrühren destilliertes Wasser bis zur Marke hinzugefügt. Der vereinfachte Colorimeter (Fig. 44) besteht aus einem schwarzen Holzblock mit zwei horizontalen und zwei vertikalen Bohrungen. Die vertikalen Bohrungen sind für zwei gleichkalibrige Glasrohren von 30 cm³ Inhalt bestimmt sie sind in Zehntelkubikzentimeter eingeteilt. Durch die horizontalen Bohrungen die durch eine matte und blaue Glasscheibe abgeschlossen sind wird die Farbe der Flüssigkeiten verglichen. Zur colorimetrischen Bestimmung entnimmt man genau 5 cm³ aus dem Kjeldahlkolben und bringt sie in das rechte Rohr; ebenso wird aus der Vergleichsflüssigkeit in das linke Rohr gefüllt; man fügt in beide Rohren je 2 cm³ des Nesslerischen Reagens hinzu und rührt um. Bei genau gleicher Farbe beider Flüssigkeiten enthält die 1. untersuchende Flüssigkeit 40 mg/% Stickstoff. Erscheint dagegen die 2. untersuchende Flüssigkeit intensiver gefärbt als die Testlösung, so wird sie solange durch Zusatz von destilliertem Wasser unter Umrühren verdünnt bis die Farbe beider Flüssigkeiten genau die gleiche ist. Sowohl die unverdünnte wie die verdünnte Flüssigkeit bleibt vollständig klar so daß eine genaue Einstellung stets erzielt werden kann. Nachdem die Farbgleichheit erreicht ist, wird der Stand der verdünnten Flüssigkeit in der Röhre abgelesen. Die Menge des Stickstoffes erfährt man durch Multiplikation der Zahl 40 mit einem Bruch, dessen Zähler die abgelesene Menge der verdünnten Flüssigkeit darstellt, der Nenner ist 7 (5 + 2, d. h. die Flüssigkeitsmenge vor der Verdünnung).

Beispiel. Bis zur Gleichfärbigkeit wurde Wasser bis 9.1 cm³ zugefügt. Der Stickstoffgehalt beträgt also $40 \times \frac{9.1}{7} = 40 \times 1.3$

*) Diese Lösung ist monatelang haltbar

= 52.0 mg%. Erscheint nach dem Zusatz des *Nesslerischen* Reagens die zu untersuchende Flüssigkeit blässer gefärbt als die Testlösung, so wird die Testlösung verdünnt. Die Berechnung geschieht alsdann so, daß die Zahl 40 mit dem umgekehrten Bruch multipliziert wird. Beispiel Die Testlösung wurde mit Wasser bis 8.9 cm³ verdünnt. Der N-Gehalt beträgt dann $40 \times \frac{7}{8.9} = 31.5 \text{ mg\%}$

Die Berechnung beruht auf folgenden Tatsachen. Für die Herstellung der Testlösung ist 1 cm³ der verdünnten Standardlösung = 0.1 mg Stickstoff auf 50 cm³ verdünnt worden. Von dieser Verdünnung sind 5 cm³ d. h. der zehnte Teil als Testlösung benutzt worden. In dieser Lösung sind also $\frac{0.1}{10} \text{ mg} = 0.01 \text{ mg}$ Stickstoff enthalten. Bei Farbengleichheit enthalten also die 5 cm³ der Versuchsflüssigkeit ebenfalls 0.01 mg und der ganze Inhalt des Kjeldahlkolbens 0.1 mg. Da zur Untersuchung 0.25 cm³ Blut genommen sind so ist in 100 cm³ Blut $\frac{0.1 \times 100}{0.25} \text{ mg} = 40 \text{ mg}$ enthalten.

Das normale Blut enthält im Durchschnitt 20 bis 40 höchstens 50 mg Reststickstoff in 100 cm³

Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

Infolge des großen Eiweißgehaltes des Blutes kann man die Bestimmung des Gesamtstickstoffes mit geringeren Blutmengen ausführen. Es genügen hierzu 0.1 bis 0.2 cm³ Blut.

Das genau abgemessene Blut bringt man in den Mikro-Kjeldahl Kolben, spült die Pipette einige Male mit Wasser in dem Kolben ab, setzt Schwefelsäure, Kaliumsulfat und Kupfersulfat in denselben Mengen wie bei der Reststickstoffbestimmung hinzu. Die Verbrennung, Destillation und Berechnung geschieht in derselben Weise wie bei der Halbmikromethode der Reststickstoffbestimmung.

Zur Bestimmung nach der kolometrischen Methode von *Kowarski* wird das Serum 200fach verdünnt; von dieser Verdünnung werden 5.0 cm³ zur Verbrennung angewandt. Die Berechnung erfolgt wie bei der Reststickstoffbestimmung, mit dem Unterschied, daß anstatt der Zahl 40 die Zahl 400 mg% gesetzt wird.

Der Stickstoffgehalt des normalen Serums beträgt 1.1 bis 1.4% des Blutes 3.5 bis 3.7%.

Bestimmung des Harnstoffes

1 Nach der Brommethode. Mit dem Ureometer nach *Kowarski*. Man mißt 2.5 cm³

Blutserum ab bringt es in ein Zentrifugenglas fügt 25 cm^3 10%ige Trichloressigsäurelösung hinzu schüttelt gut durch und zentrifugiert etwa zehn Minuten. Mit der klaren Flüssigkeit wird die Harnstoffbestimmung genau wie bei der Harnuntersuchung ausgeführt (vgl. Seite 215). Die Bestimmung kann man ebenso auch mit dem Gesamtblut ausführen, zu diesem Zwecke wird bei der Blutentnahme eine gerinnungshemmende Substanz (Natriumfluorid oder Kaliumoxalat) zugesetzt. Der Harnstoffgehalt des normalen Blutes schwankt zwischen 0.2 und 0.5%. Um die Bestimmung der entsprechenden geringen Gasmenge zu ermöglichen ist der obere Teil des Ureometers in 0.02 cm^3 geteilt. Die Teilstriche stehen so weit auseinander daß eine Ablesung von 0.01 cm^3 genau geschehen kann. Die Berechnung geschieht wie bei der Harnuntersuchung d. h. die abgelesene Gasmenge wird mit der in der Tabelle gefundenen Zahl multipliziert.

Bestimmung der Harnsäure.

Colorimetrische Mikromethode nach Kowarski (Prinzip Morris und Macleod).

Prinzip Färbung nach Polin. Ausfällung der Harnsäure als Zinkverbindung. Colorimetrische Bestimmung mittels Arsenowolframsäure im Komparator durch Verdünnung.

Reagenzien 1 10%ige Natriumwolframatlösung 2 $\frac{3}{4}$ n Schwefelsäure. 3 25%ige Zinkchloridlösung 4 5%ige Natriumcarbonatlösung 5 10%ige Cyannatriumlösung (in dunkler Flasche) 6 Standardlösung nach Benedikt 45 g sekundäres Natriumphosphat (Na_2HPO_4) und 0.5 g primäres Natriumphosphat (NaH_2PO_4) werden in 250 cm^3 heißem destilliertem Wasser gelöst. Andererseits wird genau 0.1 g reiner Harnsäure abgewogen in einem Jenaer Reagensglase in etwa 10 cm^3 destilliertem Wasser aufgeschwemmt in die heiße Phosphatlösung eingegossen und mit destilliertem Wasser nachgespült.

Man rührt bis zur völligen Auflösung der Harnsäure um läßt erkalten setzt 0.7 cm^3 Eisessig hinzu und gießt alles in einen 500 cm^3 fassenden Meßkolben um Man spült mit kleinen Mengen destillierten Wassers nach und füllt mit destilliertem Wasser bis zur Marke. Die Flüssigkeit hält sich mit etwas Chloroform versetzt zwei Monate unverändert Für die Harnsäurebestimmung wird diese Lösung jedesmal auf das 20fache verdünnt. 7 Harnsäurereagens nach *Morris* und *Macleod* 20 g Natriumwolframat (rein) 25 g Arsensäureanhydrid und 150 g destillierten Wassers werden zwei bis drei Stunden gekocht. Tritt während des Kochens eine blass oder grüne Farbe auf so wird sie durch Zusatz einer geringen Menge Bromwasser zu der abgekühlten Flüssigkeit beseitigt. Nach dem Abkühlen wird mit destilliertem Wasser bis auf 200 cm^3 gefüllt.

Ausführung Man bringt in ein Zentrifugenglas genau 5.95 cm^3 Wasser 0.35 cm^3 Serum 0.35 cm^3 der Natriumwolframatlösung rührt um und setzt 0.35 cm^3 der Schwefelsäurelösung hinzu. Es wird umgerührt und abzentrifugiert Die klare farblose Flüssigkeit wird in ein Reagenzglas abgegossen Man mißt mit einer Pipette 5 cm^3 ab und bringt sie in ein trockenes Zentrifugenglas Jetzt setzt man 0.1 cm^3 der Zinkchloridlösung und 0.2 cm^3 der Sodalösung hinzu Man rührt leicht um wobei eine Trübung entsteht die sich allmählich in eine flockige Ausfällung umwandelt Die auf diese Weise ausgeschiedene Zinkverbindung der Harnsäure wird abzentrifugiert die klare Flüssigkeit abgegossen (Ist die abzentrifugierte Flüssigkeit nicht klar so ist der Versuch nicht verwertbar) Das umgeklippte Röhrchen wird auf zwei bis drei Minuten auf Filterpapier gestellt damit der Rest der Flüssigkeit besser abläuft. Hierauf setzt man zum Niederschlag in Zentrifugenröhrchen 0.2 cm^3 der Cyannatriumlösung hinzu durch leichtes Schütteln wird der Niederschlag aufgelöst man fügt fünf bis sechs Tropfen destilliertes Wasser hinzu und gießt die Flüssigkeit in das

rechte Röhrchen des Komparators*) man spült noch zweimal mit je fünf Tropfen Wasser nach. (Die Röhrchen des Harnsäurekomparators sind etwa 20 cm hoch und sind von 2 bis 10 cm³ geeicht) In das linke Röhrchen bringt man genau 10 cm³ der frisch hergestellten 20fachen Verdünnung der Standardlösung und 0.2 cm³ der Cyannatriumlösung. Hierauf wird zu dem Inhalt in beiden Röhrchen 0.05 cm³ des Harnsäurerengens hinzugefügt, umgerührt, man füllt bis zur Marke 2 mit destilliertem Wasser an, rührt um und läßt zur Entwicklung der Farbe zehn Minuten stehen. Bei Farbengleichheit enthält das Blut 4.0 mg% Harnsäure (in 0.25 des untersuchten Serums ist 0.01 mg vorhanden).

Ist die Versuchsflüssigkeit im rechten Röhrchen intensiver gefärbt, so wird sie durch tropfenweisen Zusatz von destilliertem Wasser bis zur Farbengleichheit verdünnt.

Berechnung. Die Zahl 4 wird mit einem Bruch

Menge der verdünnten Flüssigkeit

Menge der Standardflüssigkeit

multipliziert.

Beispiel. Die Versuchsflüssigkeit wurde bis 3.2 cm verdünnt. Harnsäuremenge $\frac{3.2}{2} \cdot 4 = 6.4$, da man stets

mit 4 multipliziert und durch 2 dividiert, so erhält man die gesuchte Zahl am einfachsten durch Multiplikation der verdünnten Flüssigkeitsmenge mit 2. Ist die Standardlösung intensiver gefärbt (normales Blut), so wird diese verdünnt. Der Gehalt an Harnsäure wird in diesem Falle durch Multiplikation der Zahl 4 mit dem umgekehrten

Bruch d. h. $\frac{\text{Ursprüngliche Menge der Standardlösung}}{\text{Menge der verdünnten Lösung}}$ berechnet.

Das normale Blut enthält bei purinfreier Kost nicht mehr als 3 mg% Harnsäure. Eine Vermehrung des Harnsäuregehaltes im Blut findet man bei Gicht, Retentionsnephritis, Leukämie.

*) Hersteller: *Leib-Bergmann* Berlin.

Bestimmung des Zuckers.

a) Mikromethode von Hagedorn und Jensen

Prinzip Enteiweißung durch eine kolloidale Lösung von Zinkhydroxyd. Das Filtrat wird mit Ferricyankalium gekocht, der nicht reduzierte Rest desselben jodometrisch bestimmt.

Reagenzien 1 Zinksulfatlösung 45 g Zinksulfat werden in Wasser gelöst und auf 100 aufgefüllt. Man verwendet eine 100fache Verdünnung dieser Lösung. 2 Kaliumferricyanidlösung 165 g Kaliumferricyanid und 10·6 g ausgeglühtes Natriumcarbonat werden in Wasser gelöst und im Meßkolben auf 1000 aufgefüllt (In brauner Flasche aufbewahren.) 3 Zinksulfatkochsalzlösung 10 g Zinksulfat und 50 g NaCl werden in Wasser gelöst und auf 160 cm³ aufgefüllt. 4 Kaliumjodidlösung 12·5 g KJ in Wasser lösen auf 100 cm³ auffüllen (In brauner Flasche aufbewahren) Zum Gebrauch werden 40 Teile der Lösung 3 mit 10 Teilen der Lösung 4 gemischt. Dieses Gemisch hält sich (In brauner Flasche) nur eine Woche. 5 Essigsäurelösung 3 cm³ Eisessig auf 100 cm³ aufgefüllt.

6 Stärkelösung 1 g lösliche Stärke wird unter leichtem Erwärmen in etwa 5 cm³ Wasser gelöst und mit gesättigter NaCl Lösung auf 100 cm³ aufgefüllt. 7 $\frac{1}{100}$ -n Natriumthiosulfatlösung Aus $\frac{1}{10}$ n herzustellen. 8 Kaliumjodatlösung 0·3566 g KJO₃ werden im Wasser gelöst und im Meßkolben auf 2000 aufgefüllt. Diese Lösung dient zur Einstellung des Titers der Thiosulfatlösung, die mindestens einmal wöchentlich ausgeführt werden muß. Hierzu gibt man zu 2 cm³ der Jodatlösung 2 cm³ des Gemisches aus 3 und 4, 2 cm³ der Essigsäure und zwei Tropfen Stärkelösung. Man titriert mit der Thiosulfatlösung bis zum Verschwinden der blauen Farbe. 9 $\frac{1}{10}$ -n NaOH Alle Reagenzien müssen eisenfrei sein.

Ausführung Man bringt in zwei Reagensgläser aus Jenaer Glas je 1 cm³ $\frac{1}{10}$ n NaOH und je 5 cm³ der verdünnten Zinksulfatlösung. Es entsteht eine kolloidale

Zinkhydratlösung Man entnimmt mit einer Pipette von 0.1 cm^3 aus der Fingerbeere 0.1 cm^3 Blut säubert die Pipette von außen anhaftendem Blut bläst den Inhalt in die Zinklösung spült die Pipette durch Aufsaugen und Ausblasen zweimal ab und bläst sie leer. Das zweite Reagensglas dient als leere Kontrolle. Sie wird weiter genau so behandelt wie das erste Reagensglas. Man stellt jetzt beide Reagensgläser auf drei Minuten in ein siedendes Wasserbad. Inzwischen werden zwei breite Reagensgläser (30 mm Durchmesser und 100 mm Höhe) in ein entsprechendes Gestell gebracht das man später zusammen mit den Gläsern in siedendes Wasser stellen kann. Auf jedes Glas kommt ein kleiner Trichter (etwa 4 cm Durchmesser) der einen kleinen Bausch angefeuchteter Watte enthält. Nach drei Minuten gießt man den Inhalt der erhitzten Reagensgläser auf das dazugehörige Filter. Das Filtrat muß vollständig klar sein. Man wäscht mit je 3 cm^3 destillierten Wassers zweimal nach indem man das Wasser auf das Filter gießt und gut abtropfen läßt. Jetzt entfernt man die Trichter und bringt in jedes Glas je 2 cm^3 (genau abmessen) Ferricyanidlösung. Man stellt hierauf das Gestell auf 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad. Nach dem Abkühlen bringt man in jedes Glas 2 cm^3 des Gemisches aus 3 und 4 darauf 2 cm^3 Essigsäurelösung und zwei Tropfen Stärkelösung. Man titriert mit der Thiosulfatlösung aus einer Mikrobürette bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Die Berechnung geschieht nach der Tabelle (S 353) in folgender Weise:

Man stellt zunächst fest wieviel Traubenzucker der im Vollversuch verbrauchten Thiosulfatmenge entspricht. Von dieser Zahl wird die fiktive Menge Traubenzucker abgezogen welche dem Verbrauch des Thiosulfats im Leerversuch entsprechen würde. Die Differenz ergibt dann den Zuckergehalt in Milligrammprozenten (siehe nachstehende Tabelle)

Beispiel Es sind verbraucht im Vollversuch 1.12 cm^3 und im Leerversuch 1.87 . In der Tabelle entsprechen diesen Zahlen 155 und 022 mg Zucker. Der Zucker

so bei Werten bis	1 70 —	353
	1 87 —	373
	1 99 —	385
bei ganz kleinen Werten	0 01 —	250
	bis 0 015 —	278

Die erhaltenen Zahlen sind Milligrammprozent

b) Die colorimetrische Mikrobestimmung nach A Koswarski

Prinzip Die Enteiweißung wird nach *Fujita* und *Iwatake* mit Cadmiumsulfat und Natriumhydrat ausgeführt. Man erzielt dabei die Ausfällung derjenigen reduzierenden Substanzen die den Traubenzucker vortäuschen und erhält dadurch genauere Resultate. Die enteiweißte Flüssigkeit wird mit einer alkalischen Kupfersulfatlösung, der eine bestimmte Menge Traubenzucker (100 mg%) zugesetzt ist gekocht. Das ausgeschiedene Kupferoxydöl wird mit Phosphorwolframmolybdänsäure (nach *Folin*) versetzt wobei eine tiefblaue Färbung entsteht. Colorimetrische Bestimmung im Komparator.

Reagenzien 1 Cadmiumsulfatlösung Cadmiumsulfat (*Aahlbaum* zur Arsenbestimmung) 3 08 g Normalschwefelsäure 15 0 cm³ destilliertes Wasser bis 500 0

2 Normale NaOH Lösung Aus dieser Lösung wird eine 0 56-n Lösung hergestellt indem man zu 5 5 cm³ der Lösung 2 45 cm³ Wasser zusetzt. Originallösung sowohl wie die Verdünnung müssen in gut verschlossenen Flaschen aufbewahrt werden (die Verdünnung hält sich nicht länger als eine Woche) und auf ihre Zusammensetzung von Zeit zu Zeit kontrolliert werden (Titration mit entsprechender Schwefelsäurelösung).

3 Alkalische Kupfersulfatlösung 8 0 g wasserfreies Natriumkarbonat (glühen) werden in einen 200 cm³ fassenden Meßkolben gebracht in etwa 80 cm³ destilliertem Wasser gelöst worauf 0 9 g kristallisiertes Kupfersulfat und 1 5 g Weinsäure hinzugefügt werden. Nach Auflösung setzt man destilliertes Wasser bis zur Marke hinzu.

4 0.5%ige Traubenzuckerlösung Diese Lösung wird mit der alkalischen Kupfersulfatlösung folgenderweise verdünnt Man bringt in ein Reagensglas 4.5 cm^3 der Kupferlösung und fügt genau 0.5 cm^3 der Traubenzuckerlösung hinzu Aus dieser ersten Verdünnung der Kupferlösung abgespült (1) wird eine zweite hergestellt indem man zu 9.0 cm^3 der Kupferlösung 1 cm^3 der ersten Verdünnung hinzufügt. Die Verdünnungen müssen nach der Herstellung gut durchgeschüttelt werden Die Verdünnungen müssen jeden Tag frisch hergestellt werden

5 Phosphorwolframsäurelösung In einem Jenaer Kolben von etwa 500 cm^3 bringt man 14 g Molbdänsäure 2 g Natriumwolframat 80 cm^3 10% ige Natronlauge 80 cm^3 Wasser und läßt das Gemisch 30 Minuten stark kochen Nach dem Abkühlen wird auf zirka 140 cm^3 mit Wasser aufgefüllt 50 cm^3 Phosphorsäure (spezifisches Gewicht 1.71) hinzugefügt und las auf 200 cm^3 mit destilliertem Wasser aufgefüllt

Apparatur 1 Komparator mit zwei graduierten Röhren von 30 cm^3 Inhalt 2 Je zwei Entnahmepipetten 0.1 bzw. 0.2 cm^3 Inhalt 3 Sechs Jenaer Meßpipetten zu 1 cm^3 in (10) 1 cm^3 eingeteilt 4 Zwei Meßpipetten zu 10 cm^3 in 0.1 cm^3 eingeteilt 5 Zwei kleine Trichter von 3 cm Durchmesser 6 Präparierte Filterchen

Ausführung Man bringt in zwei Zentrifugenläser je 1 cm^3 der Cadmiumlösung (1) hierauf entnimmt man aus der mit Alkohol gereinigten und abgetrockneten ungerbeerte oder dem Ohrplättchen genau 0.1 cm^3 Blut und blät es in die Cadmiumlösung hinein (Pipette durch Einsaugen und Ausblasen zwei bis dreimal ausspülen) Dasselbe wird mit dem zweiten Zentrifugengläschen wiederholt Das Blut färbt sich dabei dunkelbraun Jetzt wird genau 0.2 cm^3 der 0.5% igen Natronlauge hinzugefügt und umgerührt Das ausgeschiedene Eiweiß wird kräftig abzentrifugiert

Steht eine elektrische Zentrifuge nicht zur Verfügung so werden sowohl das Blut als auch die Reagenzien in doppelter Menge genommen also 3.4 cm^3 Cadmiumsulfatlösung 0.3 cm^3 Blut und 0.4 cm^3 Natronlauge das Ganze wird umgerührt und durch ein kleines für diesen Zweck präpariertes Filterchen filtriert.

Das Filtrierpapier wird folgendermaßen präpariert. Man läßt zehnmal das in Filterform zusammengelegte Filtrierpapier mit 5%iger Essigsäure durchspülen (es kann hierbei dieselbe Flüssigkeit benutzt werden) hierauf wird die Essigsäure durch zehnmaliges Passieren von immer frischen Mengen destillierten Wassers entfernt. Das Papier wird dann getrocknet und in kleine Filterchen geschnitten. Gleichzeitig mit dem Hauptversuch wird ein Leerversuch angesetzt und zwar in der Weise daß man in einem Zentrifugenglas 1.7 cm^3 Cadmiumlösung 0.1 cm^3 destilliertes Wasser und 0.2 cm^3 der 0.55-n Natronlauge vermischt und abzentrifugiert. Wenn keine Zentrifuge vorhanden werden doppelte Mengen genommen. Die wasserklare entweißte Flüssigkeit wird aus beiden Zentrifugengläsern in entsprechend unnummerierte Reagensgläser abgegossen. Man bringt genau 1 cm^3 der Flüssigkeit aus dem Leerversuch in die linke Röhre des Komparators und ebensoviel der Versuchsflüssigkeit in die rechte Röhre. Jetzt bringt man je 1 cm^3 der verdünnten alkalischen Kupferlösung in die Komparatorröhren und stellt sie auf sechs Minuten in kochendes Wasser. Hierauf bringt man die Röhren zur Abkühlung in kaltes Wasser (die Abkühlung darf nie länger als fünf Minuten dauern). Sodann wird in jede Röhre je 1 cm^3 der Phosphorwolframsäurelösung hinzugefügt und umgerührt. Man wartet, bis die Schaumbildung aufgehört hat und setzt hierauf tropfenweise zunächst in die linke Röhre destilliertes Wasser bis zur Marke 5 cm^3 hierauf verdünnt man die intensiver blau gefärbte Flüssigkeit in der rechten Röhre unter Umrühren solange mit destilliertem Wasser bis die Farbe in beiden Röhren im Komparator gleich erscheint. Man liest jetzt

den Stand der Flüssigkeit in der rechten Rohre ab zieht die Zahl 5 ab und multipliziert den Rest mit 20. Man erhält auf diese Weise die Zahl der Milligrammprocente des Blutzuckers. Beispiel: Der Stand der Flüssigkeit in der rechten Röhre war $13\ 5\text{ cm}^3$ der Blutzuckergehalt ist also $13\ 5 - 5 = 8\ 5 \cdot 20 = 170\text{ mg}\%$. Die durch Filtrieren gewonnene Flüssigkeit wird genau in derselben Weise behandelt wie die Zentrifugate.

Es ist besonders darauf zu achten, daß für jedes Reagens eine saubere und trockene Pipette benutzt wird und daß die Flüssigkeiten genau abgemessen werden. Nach dem Gebrauch sollen die Pipetten möglichst bald mit destilliertem Wasser abgespült und getrocknet werden. Die Methode wurde sowohl mit reinen Zuckerlösungen wie auch durch Zusatz von verschiedenen Zuckermengen zu Blutproben vielfach nachgeprüft. Sie ergab stets genaue Resultate. Sie kann daher die zeitraubenderen und komplizierten Methoden (auch die von *Hagedorn Jensen*) vollständig ersetzen. Auch kleine Zuckermengen werden ebenso genau wie sehr große angesetzt.

Der Zuckergehalt des normalen Blutes beträgt im Durchschnitt $100\text{ mg}\%$ mit Schwankungen von 70 bis $120\text{ mg}\%$. Bei der Zuckerkrankheit ist der Blutzuckergehalt vermehrt und zwar um so stärker je länger die Krankheit besteht.

Zur Feststellung einer Veranlagung für die Zuckerkrankheit wird folgende Belastungsprobe ausgeführt: Der nüchterne Patient erhält 50 g Traubenzucker; vorher sowie nach einer halben Stunde, nach einer Stunde und nach zwei Stunden wird der Blutzucker untersucht. Bei normalen Personen steigt der Blutzuckergehalt nach einer halben Stunde um 100% und geht nach einer Stunde bereits zurück, um nach zwei Stunden wieder auf den Anfangswert zu sinken. Bei latentem Diabetes ändert sich diese Kurve nach zwei Richtungen: erstens steigt nach einer halben Stunde die Kurve viel höher und zweitens sinkt sie nach zwei Stunden nicht bis zum Ausgangspunkt. Es ist noch zu erwähnen, daß auch beim Basedow die Zuckertoleranz herabgesetzt ist, so daß bei dieser Krankheit bei der Belastungsprobe ähnliche Kurven wie bei dem Diabetes sich zeigen können. Dagegen ist die Toleranz bei Nyxödem erhöht, so daß hier die Kurven eine flache Form zeigen.

Bestimmung des Indicans

Prinzip Mit der von *Jolles* angegebenen Reaktion erhält man in 10 cm^3 Flüssigkeit noch ein positives Resultat wenn der Gehalt an Indican 0.0032 mg beträgt. Man verwendet fallende Mengen enterweißten Serums und stellt fest bei welcher Menge noch ein positives Resultat erzielt wird. Das normale Blut enthält 0.3 bis 0.8 mg Indican im Liter. Bei Krankheiten kann eine Vermehrung bis 24 $\text{mg}^0/_{100}$ eintreten (siehe nachstehende Tabelle)

Methode von Rosenberg Es werden gleiche Mengen Serum und 20%ige Trichloressigsäure vermischt und filtriert. In eine Reihe von Reagensgläsern bringt man fallende Mengen des Filtrats (10 8 6 4 3 0 2 5 2 0 1 5, 1 0 0.5 0.2 0.1). Man füllt überall mit destilliertem Wasser bis 10 cm^3 und versetzt mit 1.0 cm^3 5%igem Thymolspiritus und 10.0 cm^3 des *Obermeyerschen* Reagens (1.3 Eisenchlorid auf 1 l Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1.19) nach 20 Minuten extrahiert man mit 2.0 cm^3 Chloroform. Nach zwei Stunden wird das Resultat abgelesen. Man bestimmt die Grenzreaktion und berechnet daraus den Indicangehalt des Serums. Nach *Jolles* findet man in 10 cm^3 Flüssigkeit noch eben eine positive Reaktion wenn diese 0.0032 mg Indican enthält. War z. B. in 8 cm^3 des Filtrates verdünnt mit 2 cm^3 Wasser die Probe eben positiv dann enthielt diese Lösung 0.0032 mg Indican. 8 cm^3 Filtrat entsprechen 4 cm^3 Serum. 1000 cm^3 Serum enthalten $-\frac{1000}{4} \times 0.0032 = 0.8 \text{ mg}$ Indican. Zur

Erleichterung der Berechnung ist von *Rosenberg* folgende Tabelle angegeben

Filtrat cm^3	Indican $\text{mg}^0/_{100}$
10	0.64
8	0.80
6	1.06
4	1.60
3	2.1

Filtrat cm^3	Indican $mg/100$
2.5	2.6
2.0	3.2
1.5	1.2
1.0	6.4
0.5	12.8
0.2	32.0
0.1	64.0

Die Methode erfordert größere Blutmengen (20 bis 25 cm^3 Serum). Sollten diese nicht zur Verfügung stehen, so muß die Zahl der Röhren vermindert werden: man beginnt in solchen Fällen den Versuch nicht mit 10 cm^3 , sondern mit 5 cm^3 Filtrat und setzt weiter 1, 0.2, 0.2 und 1 cm^3 Filtrat an.

Bestimmung des Kochsalzes

a) Mikromethode

Prinzip: Die Latrobeißung wird nach Fujita und Latal zu geführt und der Chlorgehalt nach Lohard bestimmt.

Benötigte Lösungen

- 1 Cadmiumlösung } siehe Mikro-Blutzuckerbestimmung nach Kowarski
- 2 trockene NH_4OH
- 3 n_{100} Silberlösung frisch herzustellen aus n_{100} Füllische Silbernitratlösung — sauer — mit $NaOH$ (Argentum nitricum 10.000, Acidum nitricum 2.000, Liquor ferri ammoniaci oxidati 50, Aqua dest. ad 1000)
- 4 n_{100} Rhodankaliumlösung (Lösung stellen gegen n_{100} $AgCl$ Lösung)

Zu 1 cm^3 Cadmiumlösung gibt man 0.2 cm^3 Blut oder Serum und 0.1 cm^3 Natronlauge. Nach gutem Durchmischen wird zentrifugiert. Vom Zentrifugat bringt man 2 cm^3 in ein 25 cm^3 Recherglas und 2 cm^3 n_{100} Silberlösung leicht kurz auf bis zur Zusammenklumpung des sich abscheidenden $AgCl$. Nach Abkühlung wird mit Rhodankaliumlösung zur Rotfärbung titriert.

Die beim Titrieren verbrauchte Rhodanmenge wird von 2 abgezogen und um den Prozentgehalt an NaCl im Blut oder Serum zu erhalten mit 0.585 multipliziert

b) Halbmikromethode.

Man bringt in ein Zentrifugenglas 10 cm^3 Serum oder Vollblut 7 cm^3 destilliertes Wasser 10 cm^3 10%iges Natriumwolframat und 10 cm^3 $\frac{1}{2}$ normale Schwefelsäure, rührt gut um und zentrifugiert ab (oder filtriert durch ein kleines Filterchen) 5.0 cm^3 des Filtrates (entsprechend 0.5 cm^3 Blut) versetzt man mit 1 bis 2 Tropfen einer 1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung und neutralisiert mit Sodalösung (etwa 2 Tropfen einer 5%igen Lösung) Hieran setzt man 2 bis 3 Tropfen Kaliumchromatlösung zu und titriert mit $\frac{1}{80}$ n Silberlösung bis zur Braunfärbung. Jedem Kubikzentimeter der Silberlösung entspricht 1.17 mg Kochsalz. Beispiel: Es sind verbraucht 2.57 cm^3 Silberlösung für 0.5 cm^3 Blut für 100 cm^3 also $200 \times 2.57 \times 1.17 \text{ mg} = 601.3 \text{ mg\%}$ (normaler Gehalt um 600 mg\%) Lichtwitz empfiehlt die Kochsalzbestimmung nicht mit Serum sondern mit Vollblut das aus der nicht gestauten Vene entnommen ist auszuführen

Nachweis und Bestimmung des Bilirubins.

Haymans van der Bergh weist das Bilirubin in Serum mittels des *Ehrlichschen* Diazoreagens nach. Er unterscheidet zwei Reaktionen die direkte und indirekte. Als direkte Reaktion bezeichnet er die Reaktion die mit dem mit Wasser verdünnten Serum sofort positiv ausfällt fällt diese Reaktion negativ aus ergibt aber nach Ausfällung mit Alkohol die alkoholische Lösung ein positives Resultat so spricht er von einer indirekten Reaktion. Die direkte Reaktion soll für den Stauungsikterus typisch sein die indirekte Reaktion für lokal gebildeten (hamatogenen?) Ikterus. Fällt die direkte Reaktion nicht sofort sondern erst nach drei bis vier Minuten positiv aus so spricht man von einer verzögerten Reaktion.

Ausführung. Direkte Reaktion Ein Teil Serum wird mit zwei Teilen destillierten Wassers verdünnt zur Ausführung der Reaktion wird zu einem Volumen dieses Gemisches ein viertel Volumen des frisch hergestellten Diazoreagens zugesetzt bei positivem Ausfall entsteht eine deutliche Rosafärbung der Flüssigkeit nach Zusatz von ein bis zwei Tropfen konzentrierter Salzsäure wird die Flüssigkeit blauviolett

Indirekte Reaktion Man bringt in ein Zentrifugenröhrchen einen Teil Serum (10 bis 20 cm^3) und eine doppelte Menge 98%igen Alkohol schüttelt um und zentrifugiert. Mit der klaren Flüssigkeit wird die Reaktion in derselben Weise wie bei der direkten Reaktion ausgeführt

Stammlösungen für das Reagensgemisch

1 Lösung	Sulfanilsäure	0.2
	Salzsäure konzentriert	3.0
	(Spez. Gewicht 1.19)	
	Destilliertes Wasser	200.0
2 Lösung	Natriumnitrit	0.5
	Destilliertes Wasser	100.0

Zu 10 cm^3 der 1. Lösung werden 0.3 cm^3 der 2. Lösung hinzugefügt.

Die quantitative Bestimmung kann colorimetrisch nach demselben Prinzip ausgeführt werden Als Vergleichsflüssigkeit wird eine Kobaltsulfatlösung benutzt die 2.161 Kobaltsulfat in 100 cm^3 Wasser enthält 1 cm^3 Serum wird mit 2 cm^3 Alkohol versetzt und weiter so behandelt wie bei der indirekten Reaktion 10 cm^3 der alkoholischen Lösung bringt man in den Trog des *Autenriethschen* Colorimeters fügt 0.25 cm^3 des Diazoreagens und 0.5 cm^3 Alkohol hinzu Man rührt um In den leeren Keil gießt man die Kobaltsulfatlösung Die Berechnung geschieht in üblicher Weise wobei zu berücksichtigen ist daß das Serum fünffach verdünnt wurde und daß die Standardlösung einem Bilirubin gehalt von 1:200 000 entspricht (eine Einheit nach *van der Berg*)

Steht ein Colorimeter nicht zur Verfügung, so kann die Bestimmung nach dem Prinzip der Comparatorenmethoden ausgeführt werden. Man bringt in zwei gleichkalibrige Reagenzgläser je 1 cm^3 der Kobaltlösung und der Versuchslösung. Ist die Kobaltlösung intensiver gefärbt, so wird sie tropfenweise mit destilliertem Wasser bis zur Gleichfärbigkeit verdünnt. Ist dagegen die Versuchslösung intensiver gefärbt, so wird sie nicht mit Wasser sondern mit Alkohol verdünnt.

Berechnung Bei gleicher Farbe beider Lösungen enthält das Serum $0.5 \times 5 = 2.5\text{ mg\%}$. Ist die Kobaltlösung verdünnt worden, so muß die Zahl 2.5 durch die Zahl der Kubikzentimeter der verdünnten Lösung dividiert werden. Ist die Versuchslösung verdünnt worden, so muß die Zahl 2.5 mit der Zahl der verdünnten Kubikzentimeter multipliziert werden.

Beispiele 1. Die Kobaltlösung ist bis auf 5.0 cm^3 verdünnt worden, der Bilirubingehalt ist dann $2.5 : 5 = 0.5\text{ mg\%}$. 2. Die Versuchslösung ist mit Alkohol bis auf 2.1 cm^3 verdünnt worden. Der Bilirubingehalt $= 2.5 \times 2.1 = 5.25$.

Im normalen Blut beträgt der Bilirubingehalt nicht mehr als 0.5 mg\% (eine Einheit nach *van der Berg*).

Bestimmung des Kallums (nach *Kramer*)

Prinzip Ausfällung direkt aus dem Serum als Kobaltnitrit Doppelverbindung. Letztere wird oxydimetrisch durch Titration mit Kaliumpermanganat bestimmt.

Reagenzien 1. Natrium Kobaltnitrit Reagens wird aus 2 Lösungen hergestellt. Lösung A: 5 g Kobaltnitrat werden in 10 cm^3 Wasser gelöst und 2.5 cm^3 Eisessig hinzugefügt. Lösung B: 24 g kaliumfreies Natriumnitrit in 30 cm^3 Wasser gelöst. Man mischt die ganze Lösung A mit 42 cm^3 der Lösung B und bläst so lange Luft durch, bis keine Gase (Stickoxyde) mehr entweichen. Das Reagens hält sich im Eisschrank einen Monat lang. Vor dem Gebrauch muß es filtriert werden. 2. 20% Schwefelsäure ($20\text{ cm}^3\text{ H}_2\text{SO}_4 + 80\text{ cm}^3$ Wasser). 3. $\frac{1}{100}$ n-Oxalsäurelösung ($10\text{ cm}^3\text{ } \frac{1}{10}$ n-Oxalsäure + $2\text{ cm}^3\text{ } \frac{1}{10}$ n H_2SO_4 auf 100 cm^3 mit Wasser verdünnen). 4. $\frac{1}{100}$ n Kaliumpermanganatlösung (aus $\frac{1}{10}$ n frisch bereiten).

Ausführung Das Blut soll möglichst bald nach der Entnahme abzentrifugiert werden, um den Übergang des Kallums aus den Erythrocyten in das Serum zu vermeiden.

1 cm^3 Serum versetzt man in einem Zentrifugenglas tropfenweise mit 2 cm^3 Kobaltreagens. Nach $\frac{3}{4}$ Stunden setzt man 2 cm^3 Wasser hinzu und zentrifugiert scharf ab. Man gießt die Flüssigkeit ohne Verlust ab, gibt zum Rückstand etwa 3 cm^3 Wasser hinzu, mischt leicht um, zentrifugiert wieder ab. Man wiederholt dieses Auswaschen, bis die Flüssigkeit ganz farblos ist. Nachdem das Wasser entfernt ist, wird zum Bodensatz aus einer Mikrobürette genau 5 cm^3 Kaliumpermanganatlösung und 1 cm^3 der 20%igen Schwefelsäure zugegeben, mit einem dünnen Glasstab umgerührt und auf $1\frac{1}{2}$ Minuten in ein kleines Becherglas mit siedendem Wasser gebracht. Die rote Farbe des Kaliumpermanganats darf dabei nicht verschwinden. Sollte es der Fall sein, so muß noch Permanganat zugegeben (genau abmessen) und noch eine halbe Minute im siedenden Wasser erhitzt werden. Zu der heißen Flüssigkeit gibt man aus einer Mikrobürette unter Umrühren Oxalsäurelösung bis zur Entfärbung hinzu, worauf Permanganatlösung tropfenweise zugesetzt wird, bis gerade eine rotliche Färbung auftritt, die sich eine Minute hält.

Berechnung. Von der zugesetzten Permanganatmenge wird die Menge der zugesetzten Oxalatmenge abgezogen. Der Rest wird mit 0.071 multipliziert. Man erhält den Kaliumgehalt in 1 cm^3 Serum in Milligrammen.

Beispiel. Zugesetzt 5 cm^3 + 0.8 $\frac{1}{100}$ n Permanganat. Zur Entfärbung 1.5 $\frac{1}{100}$ n-Oxalsäure. Es sind also zur Oxydation 5.8 — 1.5 = 4.3 cm^3 Permanganat verbraucht worden. Der Kaliumgehalt in 1 cm^3 Serum = $4.3 \times 0.071 = 0.3053$ in 100 cm^3 Serum = 30.53 mg oder 30.53 mg%. Das normale Blutserum enthält ungefähr 20 mg%.

Bestimmung des Calciums.

Prinzip. Das Calcium wird direkt aus dem Serum (ohne Enteiweißung) als oxalsaure Kalk ausgefällt, abzentrifugiert und ausgewaschen. Die Menge wird durch Titration der Oxalsäure mit Kaliumpermanganat festgestellt.

Ausführung Man bringt in ein Zentrifugenglas 2 cm³ klaren (gut abzentrifugierten) Serum fügt 1·0 cm³ 6%ige Ammoniumoxalatlösung hinzu und läßt 30 Minuten stehen. Hierauf wird 10 Minuten zentrifugiert die Flüssigkeit abgegossen durch 5 cm³ destillierten Wassers ersetzt und wieder 5 Minuten zentrifugiert. Das Auswaschen mit Wasser wird nochmals wiederholt. Nachdem das Wasser abgegossen ist, verrührt man den weißen Niederschlag mit 5 cm³ normaler Schwefelsäure erwärmt die Flüssigkeit im Wasserbad auf 70 bis 75° C und titriert heiß aus einer Mikrobürette mit $\frac{1}{100}$ n Kalpermanganatlösung bis zur Rosafärbung.

Berechnung 1 cm³ der Permanganatlösung entspricht 0·2 mg Ca. Sind z. B. 11 cm³ der Lösung verbraucht worden so beträgt der Calciumgehalt in 2 cm³ Serum $11 \times 0·2 \text{ mg} = 0·22 \text{ mg}$. In 100 cm³ $0·22 \times 50 = 11·0 \text{ mg}\%$. Das normale Blut enthält durchschnittlich 10 mg % (im Serum).

Es wird nicht selten der Calciumgehalt (Ca) mit dem Kalkgehalt (Ca O) verwechselt. Der Gehalt an Kalk ist selbstverständlich größer (etwa 13·5).

Die Bestimmung des Calciums im Vollblut wird nach derselben Methode ausgeführt. Das abgemessene Blut muß durch Wasser hämolysiert werden und durch Zentrifugieren von den Resten der Blutkörperchen befreit werden. Der Calciumgehalt ist vermindert bei Tetanie und Nierenkrankheiten vermehrt bei Rachitis.

Bestimmung der Phosphate

(Nach Bell und Doisy)

Prinzip Enteiweißung durch 20%ige Trichloressigsäure. Ein Teil des Filtrates dient ohne weitere Behandlung zur Bestimmung der anorganischen Phosphate, ein anderer nach Veraschung zur Bestimmung des gesamten säurelöslichen Phosphors (einschließlich des Lipoidphosphors). Die Bestimmung der Phosphorsäure geschieht

colorimetrisch nach Zusatz von Molybdänsäure und nach folgender Reduktion wird eine Blaufärbung erzielt

Reagenzien. 1 20% Trichloressigsäure 2 Molybdänsäurelösung 50 g Ammoniummolybdat in 1000 cm^3 n-Schwefelsäure unter leichtem Erwärmen auflösen und wenn nötig filtrieren. 3 Hydrochinonlösung 20 g Hydrochinon in Wasser lösen auf 1000 cm^3 auffüllen und 1 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure zufügen 4 Carbonatsulfitlösung 1 l einer 20%igen Natriumcarbonatlösung mit 500 cm^3 einer 15%igen Natriumsulfitlösung mischen (alle 2 Wochen neu herstellen) 5 Standardlösung 4 386 g trockenes primäres Kaliumphosphat (*Sorensen*) werden in Wasser gelöst und auf 1000 cm^3 aufgefüllt Diese Lösung enthält in 1 cm^3 1 $\text{mg}\%$ Sie wird zum Gebrauch auf das 200fache verdünnt (5 cm^3 auf 1000) Die verdünnte Lösung enthält im Kubikzentimeter 0.005 $\text{mg}\%$ Die Werte für P_2O_5 errechnet man durch Multiplikation mit 2.29

Ausführung Man bringt in ein Meßkölbchen von 25 cm^3 2.5 cm^3 Serum 15 cm^3 Wasser 2.5 cm^3 Trichloressigsäurelösung, schüttelt gut durch und füllt bis zur Marke mit Wasser auf Nach 10 Minuten wird filtriert oder abzentrifugiert. Von der klaren Lösung werden je 10 cm^3 zur Bestimmung des anorganischen und des gesamten säurelöslichen Phosphors verwendet.

1 Anorganische Phosphate Man bringt in ein 25 cm^3 fassendes Meßkölbchen 10 cm^3 des enterweißten Filtrates. In ein zweites Kölbchen von gleichem Inhalt werden 5 cm^3 der verdünnten Standardlösung 4 cm^3 Wasser und 10 cm^3 der Trichloressigsäurelösung einpipettiert In beide Kölbchen wird je 1 cm^3 Molybdänsäurelösung und 2 cm^3 Hydrochinonlösung zugegeben. Man läßt 5 Minuten stehen worauf in jedes Kölbchen 5 cm^3 Carbonatsulfitlösung zugefügt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt wird. Nach 5 bis 10 Minuten wird colorimetriert Die Berechnung geschieht nach der Formel
$$P = 0.025 \frac{S_1}{S} \cdot 100 \text{ mg}\%$$

s_1 ist die Schichtdicke der Standardlösung s die der Versuchslösung bei Farbengleichheit im Colorimeter

2 Gesamter säurelöslicher Phosphor (einschließlich des Lipoidphosphors) Man bringt 10 cm^3 der enteweißten Flüssigkeit in einem kleinen Kjeldahlkolben setzt 6 bis 8 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure (spezifisches Gewicht 1.84) hinzu und erhitzt bis zu einem Volumen von 2 cm^3 hierauf wird 1 cm^3 konzentrierte Salpetersäure hinzugefügt und weiter erhitzt bis die Salpetersäure vertrieben und die Flüssigkeit klar und farblos geworden ist. Treten weiße Dämpfe auf so muß das Erhitzen unterbrochen werden damit keine größeren Verluste an Schwefelsäure entstehen. Die abgekühlte Flüssigkeit wird mit 8 bis 10 cm^3 Wasser in ein Meßkölbchen von 25 cm^3 überspült. In ein zweites Kölbchen kommen 5 cm^3 der verdünnten Standardlösung und 5 bis 6 Tropfen konzentrierter H_2SO_4 . Weiter wird genau so verfahren, wie bei der Bestimmung der anorganischen Phosphate. Auch die Berechnung geschieht nach derselben Formel. Die Bestimmung des anorganischen Phosphors muß bald nach der Blutentnahme vorgenommen werden da beim längeren Stehen organischer Phosphor mitbestimmt wird.

Das normale Blut enthält $4\text{ mg}\%$ anorganischen und $2\text{ mg}\%$ organischen Phosphors

Bestimmung der Acetonkörper

(Nach Engfeldt Pincussen)

Prinzip Das Blut wird enteweißt Aus dem eiweißfreien Filtrat wird das Aceton (präformiertes und aus der Acetessigsäure) abdestilliert und jodometrisch bestimmt. Hiernach Behandlung mit Bichromat schwefelsäure das Aceton der Oxybuttersäure destilliert und jodometrisch bestimmt.

Reagenzien 1 10% Natriumwolframat 2. $\frac{1}{2}n$ Schwefelsäure 3 20% ige Schwefelsäure 4. Bichromat schwefelsäure (2 g Kaliumbichromat + 20 cm^3 konzentrierte

Schwefelsäure mit Wasser auf 100 cm^3 verdünnt) 5 Konzentrierte Natronlauge 6 $\frac{1}{100}$ n Jodlösung 7 $\frac{1}{100}$ n Thiosulfatlösung 8. 1% Stärke.

Ausführung 5 cm^3 Oxalatblut versetzt man mit 35 cm^3 Wasser 5 cm^3 der Wolframatlösung und tropfenweise mit 5 cm^3 $\frac{1}{10}$ n Schwefelsäure, rührt um und filtriert 20 cm^3 des Filtrates (= 2 cm^3 Blut) bringt man in den Kolben des Destillierapparates (man benutzt denselben Apparat wie bei der Acetonbestimmung im Harn vgl. S 229) und fügt 1 cm^3 der 20%igen Schwefelsäure hinzu. Die Vorlage wird mit 4 cm^3 Jodlösung und 4 cm^3 Natronlauge beschickt. Nachdem der Apparat an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist wird unter Erhitzen 25 Minuten ein Luftstrom durchgesaugt. Hierauf wird die Vorlage abgenommen und eine zweite mit dem gleichen Gehalt an Jodlösung und Natronlauge angeschlossen. Durch den Trichter des Destillationsgefäßes werden jetzt in 4 Portionen 10 cm^3 Bichromatschwefelsäure zugesetzt und unter Erhitzen wird weiter 25 Minuten destilliert. In der ersten Vorlage befindet sich das freie Aceton und das Aceton der Acetessigsäure in der zweiten das Aceton aus der β -Oxybuttersäure.

Nach 15 Minuten bringt man in jede Vorlage etwa 3 bis 4 cm^3 Schwefelsäure (20%) wobei die Flüssigkeit durch Anscheidung von freiem Jod sich bräunlich färbt. Man fügt 2 bis 3 Tropfen Stärkelösung hinzu und titriert mit der Thiosulfatlösung bis zur Entfärbung. Es ist unbedingt notwendig die $\frac{1}{100}$ n Jodlösung jedesmal, mittels der $\frac{1}{100}$ -n Thiosulfatlösung zu kontrollieren und bei nicht übereinstimmendem Resultat bei der Berechnung eine entsprechende Korrektur zu machen. Es empfiehlt sich außer dem auch einen Leerversuch anzustellen.

Berechnung Man zieht von der vorgelegten Menge Jodlösung die verbrauchte Menge Thiosulfatlösung und multipliziert den Rest für die erste Vorlage mit 0.1024 für die zweite mit 0.25. Man erhält in erstem Falle den Gehalt des Acetons in Milligrammen für 2 cm^3 Blut.

im zweiten Falle den Gehalt der β -Oxybuttersäure in Milligrammen für 2 cm^3 Blut. Durch Multiplikation mit 50 erhält man den Gehalt in Milligrammprozenten.

Die bei der Berechnung der Resultate zur Multiplikation angewandten Zahlen sind höher als die üblichen. Das ist folgenderweise zu erklären. Beim ersten Destillat handelt es sich um ein Gemisch von Aceton und Acetessigsäure; es wird daher anstatt 0.967 (Zahl für Aceton) mit 1.024 multipliziert. Nach den Versuchen von *Engdahl* beträgt die Ausbeute von Aceton aus β -Oxybuttersäure im zweiten Destillat nur 69.2%, und daher entspricht jedem Kubikzentimeter $1/100$ n Jodlösung 0.25 mg β -Oxybuttersäure.

Bestimmung des Cholesterins

(Nach *S. M. Neuschloß*)

Prinzip: Eiweißfällung mit Alkohol. Im Filtrat colorimetrische Bestimmung des Cholesterins (freies Cholesterin + Cholesterinester).

Ausführung: 0.5 cm^3 Blutserum werden in einem Reagensglase mit 9.5 cm^3 95%igem Alkohol versetzt und energisch durchgeschüttelt. Nach etwa 10 Minuten wird filtriert. 5 cm^3 des Filtrates werden in ein anderes Reagensglas pipettiert; dann wird die Flüssigkeit auf dem Wasserbade verdampft. Es muß unbedingt darauf geachtet werden, daß der Rückstand vollkommen trocken und frei von Wasser und Alkohol ist. Nach Abkühlen des Reagensglases wird sein Inhalt mit 5 cm^3 wasserfreiem Chloroform versetzt und nach einigen Minuten werden zwecks colorimetrischer Bestimmung 2 cm^3 Essigsäureanhydrid und 0.1 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt. Nach 15 Minuten Aufenthalt im Dunkeln bei etwa 35° C kann die Colorimetrie ausgeführt werden. Als Vergleichsflüssigkeit dient eine 0.2%ige Lösung von reinem Cholesterin in Chloroform, die im oben angegebenen Verhältnis mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure versetzt wird. Die erhaltenen Cholesterinmengen müssen auf 0.25 cm^3 Serum bezogen werden.

Der colorimetrische Vergleich wird in üblicher Weise durchgeführt. Die Berechnung erfolgt bei Verwendung des fertigen Farbleiles des *Autometrischen Colorimeters* nach der beigegebenen Tabelle. Bei Verwendung des *Leerleiles* und der obigen Vergleichslösung entspricht der Gehalt des Blutes an Cholesterin bei Farbgleichheit und gleicher Schichtdicke 400 mg%.

Sind die Schichtdicken bei gleicher Farbe verschieden so erhält man den Cholesteringehalt durch Multiplikation der Zahl 400 mit dem Quotienten

Schichtdicke der Vergleichslösung

Schichtdicke der Versuchslösung

Beispiel Die Schichtdicke der Testlösung beträgt 60 die Schichtdicke der Versuchslösung 100 Der Cholesterin gehalt = $400 \times \frac{60}{100} = 240 \text{ mg\%}$

Der Cholesteringehalt des normalen Blutes beträgt etwa 160 bis 180 mg%. Er ist vermehrt bei Gravidität Diabetes Lues bei Nephropathien*) und Gicht Vermindert bei vielen Infektionskrankheiten

Bestimmung des Kreatinins und Kreatins

Prinzip Intensivfärbung mit Trichloressigsäure colorimetrische Bestimmung des präformierten Kreatinins mittels der Pikrinsäurereaktion in einem Teile des Filtrates in einem anderen Teile wird das Kreatin durch Erhitzen unter erhöhtem Druck in Kreatinin umgewandelt und darauf das Gesamtkreatinin bestimmt Aus der Differenz Gesamtkreatinin — präformiertes Kreatinin läßt sich die Menge des Kreatins berechnen

Reagenzien 1 20%ige Trichloressigsäure 1%ige Pikrinsäure (aus chemisch reinem Präparat in dunkler Flasche aufzubewahren) 3. 10%ige Natronlauge 4. Kreatininstandardlösung 0.1 g reines Kreatinin (das Präparat Ilun Bayer) wird unter Zusatz von 10 cm³ 1/10 n

*) Bei genuiner Nephrose werden bei einem Gehalt von 400 bis 500 mg% die Ödeme manifest

Klop 10 L K w 11 Praktikum 12 Aufl

HCl in Wasser gelöst dann wird auf 100 cm^3 aufgefüllt. Die Lösung ist gut haltbar. Aus dieser Stammlösung wird jedesmal eine 20fache Verdünnung hergestellt. 4 cm^3 dieser Verdünnung enthalten 0.2 mg Kreatinin.

Ausführung Man bringt in ein Zentrifugenglas 6 cm^3 Serum 24 cm^3 Wasser 30 cm^3 Trichloressigsäure und rührt gut um. Man zentrifugiert ab und gießt die klare Flüssigkeit in ein Reagensglas 4 cm^3 davon bringt man in einen Meßzylinder von 25 cm^3 Inhalt oder in ein Reagensglas mit Marke bei 15 cm^3 . Weitere 4 cm^3 bringt man in ein zweites Reagensglas mit derselben Marke. Ein drittes Reagensglas mit derselben Teilung wird mit 4 cm^3 der verdünnten Standardlösung und 12 cm^3 Trichloressigsäure beschickt. Das zweite Reagensglas wird mit etwas Zinnfolie verschlossen und in einem Autoklaven 30 Minuten auf 135° erhitzt. Nach dem Abkühlen bringt man in sämtliche Röhrchen je 5 cm^3 eines Gemisches aus 25 cm^3 Pikrinsäurelösung und 10 cm^3 Natronlauge (frisch herstellen) läßt fünf Minuten stehen und füllt bis zur Marke (15 cm^3) mit Wasser. Man mischt gut durch und colorimetriert unter Vorsatz eines Kobaltglases.

Bei gleicher Farbe und Schichtdicke der Test- und Versuchslösung sind in 2 cm^3 Serum 0.2 mg Kreatinin enthalten also in 100 cm^3 $0.2 \times 50 = 10 \text{ mg}$. Bei ungleicher Schichtdicke wird die Zahl 0.2 multipliziert mit dem Quo-

tienten $\frac{\text{Schichtdicke der Testlösung}}{\text{Schichtdicke der Versuchslösung}}$

Der Kreatiningehalt wird bestimmt durch Multiplikation der Differenz zwischen präformiertem und Gesamtkreatiningehalt mit dem Quotienten 1.27

Der Kreatiningehalt des normalen Blutes beträgt 1 bis 2 mg% Kreatin + Kreatinin 5 bis 6 mg%.

Die Mikromethode zur Bestimmung von Äthylalkohol im Blut nach Widmark

Prinzip. Der Alkohol wird aus dem Blute in eine Bichromat-Schwefelsäure-Lösung abdestilliert. Alkohol reduziert das Bichromat

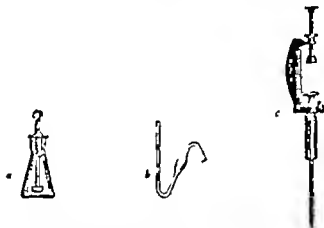
Die Menge des reduzierten Bichromats wird durch Titration des Bichromat überschusses mit Jodkalium und Thiosulfat festgestellt.

Notwendige Apparatur: 1 Destillationskolben. Ein 50 cm³ fassender Erlenmeyer Kolben aus Jenaerglas mit gut eingeschliffenen Glasstopfen. Der Stopfen (Fig. 43 a) ist nach oben ausgezogen und zu einem Haken gekrümmt, so daß man ihn aufhängen kann; nach unten trägt er an einem vertikalen Stiel einen kleinen Behälter, der zirka 200 mm³ faßt. Der Behälter soll sich 0.5 bis 1 cm über den Boden des Kolbens befinden. Für Serienbestimmungen benötigt man ein paar Dutzend solcher Kolben. Während des Erwärmens der Kolben im Wasserbad werden sie zum Festhalten der Stopfen mit Gummikappen überzogen.

2 Holzstativ mit Haken zum Aufhängen der Glasstopfen.

3 Kapillarröhrchen zum Aufsaugen und Wägen des Blutes (Fig. 43 b).

Fig. 43



4 Torsionswaage nach *Hartmann und Braun*.

5 Gummischlauch zum Kapillarröhrchen passend, zirka 3 m.

6 Hürette 10 cm³ fassend, in Teilschiffe von 0.05 cm³ geteilt.

7 Eine Glaspritze zum gleichmäßigen Abmessen der Bichromat-Schwefelsäure-Mischung (Fig. 43 c) in Metallarmatur; eine Vollpipette 0.5 cm³ zum Abmessen der H₂J-Lösung.

8 25 cm³ Messur.

9 Ein kleiner Trichter (3 cm Durchmesser).

10 Wasserbad mit Thermometer (für zwei Dutzend Kolben).

11 Apparat zur Reinigung der Kolben mit Wasserdampf: Wasserstrahlpumpe zum Trocknen der Kolben.

Erforderliche Lösungen.

1 Bichromat-Schwefelsäure. 0.25 reines umkr. tall. dertes Kaliumbichromat in 1 cm³ destilliertem Wasser gelöst und quantitativ in 100 cm³ Meßkolben überführt, worauf mit reiner konzentrierter Schwefelsäure bis

zur Marke aufgefüllt wird. Diese Lösung wird zur Bestimmung größerer Alkoholmengen benutzt (bis zu 5%_m).

Für Mengen unter 2%_m wird eine Lösung aus 0.1 g Dichromat in gleicher Weise hergestellt.

2 5%ige jodalfreie Jodkaliumlösung

3 n/100 oder n/1000 Thioalkalilösung zur Stabilisierung mit 0.1 g Merkurizyanid pro Liter versetzt

4 1%ige Stärkelösung

Samtliche Lösungen im Dunkeln aufbewahren

Reinigung der Kolben. Die Kolben und Glaspipetten müssen vollkommen rein, frei von reduzierenden Verunreinigungen und vollkommen trocken sein. Man spült sie nacheinander mit Dichromat-Schwefelsäure-Mischung, Leitungswasser und destilliertem Wasser. Dann werden sie ein bis zwei Minuten lang mit Dampf ausgeblasen, worauf sie mittels kräftig wirkender Wasserstrahlpumpe getrocknet werden.

Die Glaspipetten legt man in öfters zu erneuerndes Wasser, worauf man sie an der Luft an staubreicher Stelle trocknen läßt. Die Kapillaren bedürfen keiner Reinigung, da sie bei der Herstellung gereinigt und getrocknet werden. Jede Kapillare soll nur einmal benutzt werden.

Die Abmessung der Dichromat-Schwefelsäure-Mischung ist von großer Bedeutung bei dieser Methode, da die Präzision des Verfahrens davon im hohen Maße abhängig ist. Es handelt sich dabei nicht darum, daß man bestimmte Mengen genau abmßt, sondern daß sämtliche Kolben der Serie genau die gleiche Menge enthalten. Dies wird am besten erreicht, wenn man eine Glasspritze, deren Kolben durch eine Anschlagsschraube beim Herausziehen jedesmal in genau der gleichen Lage zum Stehen gebracht wird, verwendet (Fig. 45 c). Beim Abmessen muß man darauf achten, daß der Kolben nicht um seine Längsachse gedreht wird.

Sofort nach der Beschuckung jedes Kolbens wird der dazu gehörige Glaspipetten eingesugt. Nachdem die ganze Serie von Kolben gefüllt ist, sollen sie im Dunkeln aufbewahrt werden.

Blutentnahme. Das Blut wird aus der Fingerkuppe nach Reinigung der Haut mit einer 10%igen Sublimatlösung (andere Reinigungsmittel wie Alkohol, Äther usw. sind nicht zulässig) entnommen. Man senkt den kurzen Schenkel des Kapillarrohrens in den Blutropfen, wobei sich dasselbe automatisch füllt. Die Füllung kann durch Seigen mittels des an der Kapillare angebrachten Schlauches beschleunigt werden. Die Kapillare wird gefüllt bis der Meniskus sich ungefähr 0.5 cm vom freien Ende befindet. Hierauf wird der kurze Schenkel vorsichtig von Blut getrocknet.

Jetzt wird das Blut auf der Torsionswaage gewogen, wonach unter Zuhilfenahme des Gummischlauches das Blut in den Behälter des vorher aufgehängten Glaspipettens ausgeblasen wird. Der Glaspipetten wird unmittelbar in seinen Kolben eingehängt. Die entleerte Kapillare wird gewogen und die Differenz der beiden Wägungen ergibt das Gewicht des Blutes.

Der Glaspipetten wird unmittelbar in seinen Kolben eingefügt. Für gerichtamedizinische Zwecke werden speziell präparierte Kapillaren benutzt, da es notwendig ist, die Gerinnung und Infektion des Blutes während des Transportes zu verhindern. Man füllt drei Kapillaren (etwa 100 mg Blut) und schließt beide Enden derselben.

mit Hautschulküßchen. Beim Aufsetzen der ersten Hülse wird das andere Ende der Kapillare mit dem Finger verschlossen, um ein Herausströmen von Blut zu verhindern. Man bringt die Kapillaren in eine mit Watte beschickte Dose aus Blech und notiert auf der Etikette die erforderlichen Identitätsvermerke.

Nachdem die Kolben mit Blut beschickt sind, bringt man je einen Tropfen destillierten Wassers auf den Schiffstrand des Pstopfens, um den Schluß zu dichten. (Das Wasser wird durch Kapillarattraktion zwischen die Schiffflächen eingesogen.) Außer den Kolben mit Blut werden noch drei Blindproben d. h. Kolben, die nur Dichromat-Schwefelsäure enthalten, angesetzt. Hierauf werden sämtliche Kolben mit Gummikappen versehen. Man erleichtert das Aufsetzen der Kappen durch Befeuchten ihrer Innenseiten mit einigen Tropfen Wasser.

Das Blut kann auch mit der Venüle entnommen werden. In Bayern ist diese Methode behördlich eingeführt; es wird hierzu eine von den Behringwerken hergestellte Venüle mit „Desinfiziers“ den Ärzten zur Verfügung gestellt.

Zur Destillation taucht man sämtliche Kolben in ein Wasserbad von 50 bis 60°. Die Kolben sollen sich vollständig im Wasser befinden und darin etwa zwei Stunden lang (± 15 Minuten) verbleiben.

Hierauf werden die Kolben vorsichtig herausgenommen, abgetrocknet und von den Gummikappen befreit. Das Entfernen der Glasstopfen muß besonders vorsichtig geschehen, da durch Erschütterung das pulverförmige trockene Blut leicht vom Behälter löslöschen und in die Schwefelsäure fallen kann, wodurch die Probe unbrauchbar gemacht würde. Um dieses zu vermeiden, bringt man den Kolben auf einige Sekunden wieder in das Wasserbad, durch Steigerung des Innendruckes lösen sich die Pstopfen und können ohne Erschütterung entfernt werden.

Die Titration wird wie folgt ausgeführt. Man setzt mittels eines kleinen Trichters 25 cm³ destilliertes Wasser zu. Sind alle Kolben auf diese Weise gefüllt, so wird sorgfältig umgeschüttelt und je 0.5 cm³ Jodkaliumlösung zugesetzt. Nach einer halben bis einer Minute wird mit Thiosulfat titriert. Wird die größere Menge Dichromat angewandt, so wird zur Titration eine 0.01-n Lösung genommen.

Bei Verwendung der geringeren Menge wird mit 0.003-n Lösung titriert. Die Störlösung wird erst gegen Schluß der Titration zugesetzt. Der Farbumschlag tritt mit zirka einem halben Tropfen der 0.01-n Lösung ein. Eine Nachlösung tritt immer auf. Man nimmt darauf keine Rücksicht, man darf aber nicht zu langsam titrieren und mit der Titration spätestens eine Minute nach dem Jodkaliumzusatz beginnen.

Die Berechnung ist einfach. Der Unterschied zwischen dem Thiosulfatverbrauch des Blindprobenmittels und der Blutprobe ist der Alkoholmenge proportional. (Das Mittel der Blindproben wird aus der zweiten und dritten Probe berechnet, da die erste Probe stets zu niedrig ausfällt.) 0.01 cm³ 0.01-n Thiosulfatlösung entspricht 1.13 γ Äthylalkohol. Der Alkoholgehalt wird nach der Formel $x = 1.13 (b - a)$ berechnet. b ist der Verbrauch der Thiosulfatlösung in der Blindprobe, a in der Blutprobe in 0.01 cm³ ausgedrückt.

Wird eine 0.003-n Thiosulfatlösung verwendet, so wird anstatt mit 1.13 mit 0.57 multipliziert. Die gefundene Alkoholmenge in γ ($\gamma = 0.001$ mg) ausgedrückt, wird dann in Milligrammen auf 1 g Blut umge-

rechnet. Enthält z. B. das Blut 15 mg Alkohol in 1 g Blut, so wird die Konzentration als 15‰ bezeichnet.

Was die Fehlerquellen der Methode anbelangt, so kommen für praktische Zwecke folgende in Betracht: 1. Azeton; größere Mengen dieser flüchtigen und reduzierenden Substanz können bedeutende Fehler verursachen. Es ist daher bei größeren Mengen von Azetessigsäure im Harn die Methode nicht verwendbar.

2. Äther und Chloroform verhalten sich in derselben Weise. Die Methode darf daher während der Narkose und nach dieser nicht ausgeführt werden.

3. Paraldehyd und Amylenhydrat, Methylalkohol geben ebenfalls positive Werte. Narkotika und Hypnotika in Arzneydosen, sowie nicht flüchtige Medikamente spielen keine Rolle bei der Alkoholblutprobe.

Die praktische Verwendbarkeit der Methode liegt hauptsächlich auf dem Gebiete der gerichtlichen Medizin. In den meisten Fällen handelt es sich um Feststellung einer Beeinflussung durch Alkohol bei Unfällen, die infolge von Zusammenstößen von Fahrzeugen entstanden sind.

Durch zahlreiche Untersuchungen ist festgestellt, daß bei einem Gehalt des Blutes an Alkohol über 20‰ eine Beeinflussung durch Alkohol angenommen werden kann. Bei einer Blutkonzentration von 0,8 bis 1,4‰ trifft dieser Schluß nur für 50% der Fälle zu, ist also unsicher. Der normale Alkoholgehalt des Blutes übersteigt nicht 0,05‰.

Bei berauschten Personen soll bei Ausführung der Methode stets die größere Bichromatlosung benutzt werden. Die Berechnung der im Organismus bei der Blutentnahme vorhandenen Alkoholmenge kann annähernd nach der Formel $a = c \cdot p \cdot r$

c bedeutet die Alkoholkonzentration des Blutes, p das Körpergewicht, r ein Faktor, der das Verhältnis der Alkoholkonzentration des ganzen Körpers zu der Konzentration des Blutes zeigt. Dieser Faktor wird bei Männern gleich 0,68, bei Frauen 0,55 angenommen (Mittelwert). Wenn wir die Konzentration des Blutes mit 2,09 das Körpergewicht mit 66 kg annehmen, so wird die Alkoholmenge

$$a = 2,09 \cdot 66 \cdot 0,68 = 94 \text{ g}$$

betragen.

Ausführlich über die gerichtlich-medizinische Alkoholbestimmung und ihre Grundlagen in der Monographie *E. M. P. Widmark* in den Fortschritten der naturwissenschaftlichen Forschung, Neue Folge, Heft 11.

Bestimmung des Koagulationsbandes nach Weltmann.

Aus einer 10%igen Calciumchloridlösung werden Verdünnungen hergestellt, und zwar 20‰, 10‰, 0,9‰ usw. bis 0,1‰ (11 Röhrchen). Die Herstellung erfolgt so, daß man in einen Meßkolben je 2,109 0,8 cm³ usw. bis 0,1 cm³ der Stammlösung bringt und bis 100 cm³ mit destilliertem Wasser verdünnt. Von dieser Verdünnung bringt man in die Röhrchen je 5 cm³ jeder Konzentration. Jedes der elf Röhrchen wird mit je 0,1 cm³ des zu prüfenden Serums beschickt und umgerührt. Das Serum soll gut abzentrifugiert und nicht hämolytisch sein. Man bringt die Proben auf 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad, worauf sie abgelesen werden.

Nur die Verklumpung und Sedimentierung des koagulierten Blutes wird als positiver Ausfall angesehen. Die Symptome des verklumpten und sedimentierten Koagulats wird als Koagulationsband bezeichnet.

Das normale Koagulationsband reicht bis zu einer Konzentration von 0.5 bis 0.4%. Nach *Wilmers* ist eine Koagulation bis inklusive 0.25% bereits pathologisch. Bei Entzündungen und Exsudation findet man eine Verklumpung des Koagulationsbandes (Linksverschiebung), bei Organerkrankungen mit blutiger Umwandlung-Verlängerung des Bandes (Rechtsverschiebung). Bosartige Tumoren zeigen Linksverschiebung.

Bakteriologische Untersuchung des Blutes

1. Untersuchung des Blutes im gefärbten Ausstrichpräparat.

Malaria.

Zur Untersuchung auf Malariaparasiten wird das Blut am besten während des Abfallens des Fiebers oder unmittelbar darauf durch Einstich mit der *Franken'schen* Nadel in die mit Alkohol gereinigte Fingerbeere oder das Ohr läppchen entnommen und in der S 315 beschriebenen Weise auf einem Objektträger ausgestrichen. Mehrere Tage vor der Untersuchung darf der Patient kein Chinin genommen haben. Die Objektträger müssen sorgfältig mit Alkohol und Äther gereinigt sein.

Die Färbung wird nach *Giemsa* *Manson* oder *Leishman* vorgenommen.

Mansonmethode. Die Präparate werden zehn Minuten in Methylalkohol fixiert. Boraxmethyleneblau (vgl. Kapitel XII) wird vor dem Gebrauch so weit mit Aq dest verdünnt, daß die Farblösung im Reagenzglas gerade durchsichtig ist. In diese verdünnte Farblösung wird das Präparat fünf bis zehn Sekunden eingetaucht, in einem Glas mit Brunnenwasser so lange abgespült, bis es mattgrün gefärbt erscheint, in vertikaler Lage an der Luft getrocknet (nicht zwischen Filterpapier) und mit Gummiersen untersucht. In einem solchen Präparat sind die in violettbraun gefärbten roten Blutkörperchen und die Parasiten blau gefärbt. Die Kerne der weißen Blutkörperchen und die Parasiten blau gefärbt. Die Blutplättchen sind mattgrünblau und zeigen im Gegensatz zu den scharf begrenzten Parasiten verwaschene Ränder. Das Pigment der Parasiten ist gelb bis schwarzbraun.

Die Färbung nach *Giemsa* wird nach der S. 315 geschilderten Methode vorgenommen. Die Prüfung des Wassers auf seine Brauchbarkeit zur Verdünnung der Giesma-Lösung geschieht in der Weise, daß man zu einer Probe des Wassers einige Körnchen Hämatoxylin zusetzt. Ist das Wasser brauchbar so färbt es sich zuerst schwach gelblich und nach einer bis fünf Minuten schwach violett. Wird es sofort violett, so ist es sauer bis alkalisch; verläßt es sich überhaupt nicht, so ist es sauer oder sonst

ungeeignet. Durch Zusatz von 0.1%iger SodaLösung (mehrere Tropfen auf 1 l Wasser) bzw. 0.5%iger Essigsäure (ein bis zwei Tropfen auf 100 cm³ Aqua dest.) kann man die Reaktion des Wassers korrigieren.

Die fixierten Präparate werden noch feucht in die Farblösung gebracht und eine halbe bis eine Stunde gefärbt. Man färbt in einer Kävett, wie sie für histologische Untersuchungen benutzt wird oder in einer Färbeschale. In der die Präparate mit der Präparatseite nach unten liegend, mit der Farblösung übergossen werden. Das Protoplasma der Parasiten erscheint blau, die Kernsubstanz, das Chromatin leuchtend rot, um die Kernsubstanz findet sich meist eine ungefärbte achromatische Zone. Die roten Blutkörperchen sind rot, die Kerne der weißen Blutkörperchen bla bis dunkelviolett gefärbt.

Farbung nach *Leishmann* (vgl. Seite 317): Den verdünnten Farbstoff läßt man eine halbe Stunde auf das Präparat einwirken.

Der Nachweis vereinzelter Parasiten wird wesentlich erleichtert wenn man die Untersuchung nach der Methode des dicken Bluttropfens vornimmt (cf. Tafel XIX). Das Präparat wird in folgender Weise hergestellt. Mit der Fläche eines sorgsam mit Alkohol Äther gereinigten Objektträgers berührt man die Kuppe eines großen Bluttropfens und breitet den am Objektträger haftenden Tropfen mit einem Glasstab auf etwa Zehnpfennigstückgröße aus. Die Blutschicht darf nicht zu dick sein weil sie sonst leicht abspringt und sich schlecht färbt. Das Blut läßt man allmählich bei Zimmertemperatur oder im Brutofen antrocknen (eine bis zwei Stunden). Trocknet man zu scharf so zer springt die Blutschicht und splittert ab. Gefärbt wird ohne vorhergehende Fixierung mit verdünnter GiemsaLösung, die gleichzeitig hämolysiert. Die Hämolyse kann auch durch Aufbringen von destilliertem Wasser auf das Präparat vor der Färbung vorgenommen werden. *Schilling* empfiehlt folgendes Vorgehen. Verdünnte Farblösung (ein Tropfen auf 1 cm³ Wasser) wird auf den waagrecht mit der Präparatseite nach oben liegenden Objektträger gegossen. Nach zwei bis drei Minuten sieht man grünlichgelbe Hämoglobulinwolken vom Präparat abgehen. Nun wird die alte Farblösung und mit ihr das gelöste Hämoglobin durch Farblösung von der gleichen Konzentration oder eine dünnere Lösung (ein Tropfen auf 2 cm³ Wasser) durch Nachgießen von der Seite des etwas schräggestellten Präparates her abgeschwemmt. Der Tropfen soll jetzt grauweiß aussehen. Dann erst bedeckt man das

Präparat wieder mit Farblösung und färbt mit der konzentrierten Lösung 30 mit der dünnen 45 Minuten eventuell länger. Das Abspülen der Probe erfolgt durch seitliches Nachgießen von reinem Wasser. Zum Abfließen des Wassers stellt man den Objektträger senkrecht auf und läßt ihn langsam trocknen. Ein gutgefärbtes Präparat zeigt einen zarten rötlichvioletten Farbenton. Schlechtgefärbte Präparate sehen blau aus. In einem gut gefärbten Präparat erscheinen die Blutplättchen durchsichtig rötlich-violett (Tafel XIX).

Die Erreger der Malaria sind einzellige, zu den Protozoen gehörende Lebewesen, die einen doppelten Entwicklungsengang durchmachen, einen asexuellen als Zellschmarotzer in den roten Blutkörperchen des Menschen (endogener Entwicklungsengang oder Schizogonie) und einen geschlechtlichen in der Stechmücke *Anopheles* (exogener Entwicklungsengang oder Sporogonie). Die ungeschlechtlichen Formen werden Schizonten, die geschlechtlichen Gametocyten, Gameten oder Sporen genannt, die männlichen Mikrogametocyten, die weiblichen Makrogametocyten. Die geschlechtlichen Formen dienen der Fortpflanzung der Art und ihrer Weiterverbreitung durch die Mücke. Die Schizonten und Mikrogametocyten verschwinden nach einiger Zeit aus dem Blut. Die Makrogametocyten können jahrelang nachweisbar bleiben. Sie können sich unter besonderen Umständen durch Parthogenese wieder vermehren. Die Malaria Parasiten leben im menschlichen Blut in den roten Blutkörperchen, deren Hämoglobin ihnen als Nahrung dient. Die aus der Verdauung desselben entstehenden Stoffwechselprodukte erscheinen als feine dunkle Pigmentkörnchen (Haematin) in ihrem Protoplasma.

Die Malaria Parasiten zerfallen in zwei Gattungen, die großen Parasiten zu denen die Erreger der Fieber tertiana (*Plasmodium vivax*) und Fieber quartana (*Plasmodium malariae*) gehören, und die kleinen oder ringförmigen Tropenfieberparasiten (*Plasmodium falciparum*). Von dem Entwicklungsengang der Parasiten hängt der Fiebertypus ab, den die einzelnen Malariaformen aufweisen. Der Parasit der Fieber tertiana bedarf 2 x 24 Stunden, der der Fieber quartana 3 x 24 Stunden, der Tropenfieberparasit 24 bis 48 Stunden zu seiner Entwicklung. Der Infizierte ist fieberfrei, solange die Parasiten heranwachsen, erst nach Vollendung ihrer Entwicklung mit dem Erscheinen der sogenannten Teilungsformen setzt der Fieberanfall ein. Die Fieber quotidiana wird nicht durch einen besonderen Parasiten erzeugt, sondern ist entweder eine Tertiana duplex oder Quartana triplex.

Tertianaparasit (Tafel XX, Fig. 1) Ist das Blut auf der Fieberhöhe oder im Fieberabfall entnommen, so findet man in den nach Giemsa gefärbten Präparaten auf den roten Blutkörperchen die jüngsten Parasiten in Form kleiner eiförmiger blaufärbter Gebilde (Merozoiten), in denen das deutlich hervortretende Chromatinkorn meist

peripher gelagert ist ferner sieht man kleine Ringe, die an einer Seite eine mondsichelförmige Verdickung erkennen lassen, während der gegenüberliegenden haarfeinen Ringhälfte das intensiv rot gefärbte Chromatinkorn knopförmig aufsitzt (kleiner Tertianaparasit Siegelringform). Schon jetzt enthält der Parasit häufig feinste bräunliche Pigmentkörnchen

Sobald der Parasit etwa ein Drittel des normal großen roten Blutkörperchens einnimmt, zeigt dieses öfters eine für den Tertianatypus charakteristische Veränderung. Es treten darin rot gefärbte Tupfelchen auf, die sich mit dem Wachstum des Parasiten allmählich vergrößern (*Schuffner*sche Tüpfelung)

24 Stunden nach dem Anfall haben die Parasiten sich erheblich vergrößert: sie sind ungefähr doppelt so groß wie die kleinen Tertianaringe und füllen etwa ein Drittel bis die Hälfte des vergrößerten und verblaßten roten Blutkörperchens aus. Die Vergrößerung und das Abblassen des infizierten Erythrocyten ist ein diagnostisch wichtiges Kennzeichen des Tertianaparasiten. Ein Teil der Parasiten zeigt in diesem Stadium noch deutlich Ringform (große Tertianaringe); andere erscheinen in Form rundlicher, unregelmäßig zackig gestalteter Scheiben (amöboide Formen); auch band- und schleifenartige Formen treten vielfach auf. Das Pigment hat sich vermehrt und ist in Form brauner oder schwarzer Stippchen über den ganzen Parasiten verstreut (halb-erwachsene Parasiten). Bei allen diesen Formen findet sich das Chromatin an der Peripherie des Protoplasmas. Zwölf Stunden vor dem neuen Anfall erscheint der Parasit, da seine amöboide Beweglichkeit nachgelassen hat, rundlich und füllt bis zu zwei Drittel des um das Doppelte vergrößerten roten Blutkörperchens aus (große Parasiten). Auch der Kern hat an Volumen zugenommen und beginnt sich zu teilen.

Das Chromatin nimmt eine längliche Form an und wird durch einen längsverlaufenden Spalt geteilt. Die beiden Hälften rücken auseinander, um sich von neuem zu teilen. Nach Beendigung der Kernteilung ist das infizierte rote

Blutkörperchen das zuletzt den Parasiten nur noch als schmaler blasser Saum umgeben hatte ganz verschwunden. Der nun freiliegende Parasit erscheint gebuckelt und umschließt 15 bis 20 intensiv rot gefärbte Kerne. Das Pigment hat sich jetzt im Zentrum angesammelt oder ist radspeichenförmig angeordnet.

Das Protoplasma läßt eine deutliche Differenzierung erkennen. Zunächst erscheint nur der Rand gelappt dann auch das Innere segmentiert jeder der Kerne ist von einem blau gefärbten Protoplastatellchen vom Plasmakörper des Mutterparasiten umgeben. Zwischen Kern und Protoplasma ist eine mehr oder weniger deutliche achromatische Zone erkennbar (Teilungs- Sporulations- oder Morulaform). Nach Reifung der Tochterkeime zerfällt der Parasit in 15 bis 20 junge Parasiten sogenannte Merozoiten die nun wieder in die roten Blutkörperchen eindringen um ihren Entwicklungsgang von neuem zu beginnen.

Neben den Schizonten finden sich im Blut frisch Erkrankter vereinzelte bei Rezidiven der Malaria mehr oder weniger zahlreiche Gametocyten. Die erwachsenen Gameten gleichen in ihrer Form den großen Parasiten sie liegen entweder frei oder füllen das abgeblaßte und vergrößerte rote Blutkörperchen bis auf einen schmalen Saum aus. Von den Schizonten unterscheiden sie sich in folgender Weise. Die erwachsenen Gameten, besonders die Makro gameten sind größer als die großen Parasiten ihre Färbung ist weniger intensiv. Sie lassen keine Differenzierung in ihrem Protoplasma erkennen. Das Pigment ist reichlicher entwickelt mehr stäbchenförmig und unregelmäßig im Protoplasma verstreut. Das Chromatin läßt im Gegensatz zu gleich großen Schizonten keine Teilungsvorgänge erkennen.

Auch die männlichen und weiblichen Gameten lassen sich auf Grund ihres morphologischen Verhaltens voneinander unterscheiden. Die männlichen Gameten sind kleiner als die weiblichen schwächer färbbar im Glemsa präparat erscheinen sie hellblau das Chromatin ist stark entwickelt aufgelockert und über den ganzen Parasiten

wurden bei septischen Aborten *Streptococcus putrificus* und *Bac. emphysematosus* „Fraenkel“ im Blut gefunden

Streptokokken

Schottmüller teilt die menschenpathogenen Streptokokken auf Grund ihres Wachstums auf der Menschenblut agarplatte (fünf Teile Agar + zwei Teile Blut) in verschiedene Arten ein. Wir folgen dieser Einteilung trotzdem, die Konstanz der Arten vielfach bestritten wird. Die wichtigsten Typen sind

1. *Streptococcus pyogenes* sive *crysipelatosus* sive *haemolyticus*. Auf der Blut agarplatte entwickeln sich innerhalb der ersten 12 bis 18 Stunden bei 37° grauweiße etwas unregelmäßig runde flache Oberflächenkolonien, die von einem kreisrunden hellen Hof von 2 bis 3 mm Durchmesser umgeben sind, nachdem anfangs der Blutagar nicht die Kolonie grün verfärbt war. Bei Züchtung in Blutbouillon (5 ccm³ Bouillon mit zwei Tropfen Menschenblut) rufen sie Haemolyse hervor. Die Kultur färbt sich anfangs burgunderrot. Allmählich wird die Farbe durch Methämoglobinbildung gelblichbraun. Bei Züchtung auf Traubenzuckeragar ist keine deutliche Haemolyse nachweisbar, der Nährboden erhält ein lehmfarbenes Aussehen.

Für weiße Mäuse ist *Streptococcus haemolyticus* pathogen, frisch aus dem Blut gezüchtete Stämme sind oft von geringer Virulenz.

Streptococcus haemolyticus findet sich besonders bei Puerperalfeber, Erysipel, Phlegmonen, Sepsis, Scharlatina und deren Komplikationen Otitis media, Meningitis, Erkrankungen des Respirationstraktes. Die bei Scharlatina gefundenen Streptokokken bilden ein Toxin, das bei intracutaner Injektion von 0.001 ccm³ bei Menschen, die für Scharlach empfänglich sind, eine entzündliche Reaktion hervorruft, die bei Rekonvalaszenten von Scharlach und Personen, die Scharlach überstanden haben, ausbleibt.

2. *Streptococcus mitior* seu *viridans* bildet nach 21 bis 48stündigem Wachstum sehr feine graue oder grau-grüne punktförmige Kolonien mit einem kleinen grünen Hof. Eine weitere Vergrößerung der Kolonien

findet auch nach längerem Aufenthalt der Platte bei 37° nicht statt. Helle Höfe werden nicht gebildet oder sie sind sehr schmal und nur mikroskopisch sichtbar. In Strichkulturen sieht man nach 24- bis 48stündigem Wachstum grünliche Auflagerungen. Das grüne Aussehen der Kolonien ist besonders deutlich auf Glycerinagarblutplatten. Blutbouillon wird braunrot gefärbt. Die Bouillonkulturen müssen bis zu 14 Tagen beobachtet werden und wiederholt auf Blutplatten weitergeimpft werden. In defibriertem Blut wird der *Streptococcus viridans* nach wenigen Stunden abgetötet, während *Streptococcus haemolyticus* sich entweder sofort oder nach anfänglicher Hemmung vermehrt (Bakterizidversuch nach Schottmüller). *Streptococcus viridans* ist für Tiere nicht pathogen.

Streptococcus mitior seu *viridans* läßt sich aus dem Blute bei Endocarditis lenta züchten.

Vom *Streptococcus viridans* sind die vergrünenden Mundstreptokokken zu trennen, die in ihren Eigenschaften mit den Enterokokken (vgl. S. 265) übereinstimmen. Sie gehören zu den normalen Bewohnern der Mundhöhle, können aber zu Endocarditis und Allgemeininfektionen führen. Es gelingt dann, sie aus dem Blut zu züchten. Ihre Differenzierung gegenüber dem *Streptococcus viridans* ist bedeutungsvoll, weil die von ihnen hervorgerufenen Erkrankungen eine bessere Prognose geben als die immer tödlich verlaufende *Streptococcus viridans*-Infektion.

3. *Streptococcus mucosus*. Er ist identisch mit dem Typus III der Pneumokokken. Er ist von einer deutlichen Kapsel umgeben, durch die er sich schon mikroskopisch vom *Streptococcus erysipelatosus* und *viridans* unterscheidet. Seine Kolonien zeigen wie die des *Streptococcus viridans* eine grüne Färbung, unterscheiden sich aber von ihnen durch ihre schleimige Beschaffenheit. Er weist keine oder nur sehr geringe Hämolyse auf. Gegenüber weißen Mäusen und Kaninchen besitzt er sehr hohe Pathogenität.

Streptococcus mucosus wird bei Pneumonien im Peritonealeiter in parametritischen Abszessen bei Otitis media bei Sepsis gefunden.

Differentialdiagnose. Differentialdiagnostisch kommen vor allem Staphylokokken und Pneumokokken in Betracht. Von Staphylokokken sind die Strepto-

kokken durch kulturelle Untersuchung leicht zu trennen. Die Pneumokokken unterscheiden sich vom Streptococcus erysipelatosus schon durch ihr mikroskopisches Aussehen (Lanzettform Kapselbildung) ferner durch ihr Wachstum auf der Blutagarplatte die Auflösung in Rindergalle und ihre Optochinempfindlichkeit (s. S. 44) vom Streptococcus viridans dessen Kolonien auf der Blutagarplatte den ihren gleichen durch das mikroskopische Aussehen das Verhalten in Rindergalle und die Pathogenität gegenüber weißen Mäusen und Kaninchen.

Streptococcus putrificus ist streng anaerob. Auf der Agarplatte bildet er graue den aeroben Streptokokken ähnliche Kulturen auf der Blutagarplatte porzellanweiße Kolonien die keine Hämolyse erkennen lassen. Im Agarstich haben sich nach 24 bis 48stündigem Wachstum bei 37° uppige Kulturen entwickelt, in Agarschüttelkulturen entstehen graugelbliche Kolonien von Wetzsteinform. In den tiefen Schichten von Blutagarkulturen kommt es zur Gasentwicklung (Schwefelwasserstoff) bei Zuchtung in Blutbouillon nimmt der Blutfarbstoff eine ponceaurote Farbe an die Kulturen entwickeln einen putriden Geruch. *Streptococcus putridus* besitzt keine Tierpathogenität. Man findet ihn öfters zusammen mit einem anaeroben gramnegativen Stäbchen dem *Bac symbiophiles* Schottmüller.

Frankelscher Gashacillus vgl. Seite 490

Staphylokokkenhefunde sind bei Zuchtungsversuchen aus dem Blut stets mit Voracht zu werten da auch bei sorgfältigster Blutentnahme die Kokken von der Haut in den Nährboden gelangt sein können. Selbst der Nachweis daß es sich um pathogene Staphylokokken (s. u.) handelt spricht nicht dagegen da auch diese auf der Haut vegetieren können. Diese Möglichkeit ist besonders zu berücksichtigen wenn Staphylokokken aus dem Blut gezüchtet werden während im Litter andere Krankheitserreger nachweisbar sind. Sie sind nur dann als Krankheitserreger zu betrachten wenn sie auf

allen mit Blut beimpften Platten gleichmäßig zahlreich zur Entwicklung gekommen sind und das Krankheitsbild diesen Befund erwarten läßt

Zur Feststellung ob es sich um pathogene Staphylokokken handelt dienen die Agglutinationsprobe, die Prüfung auf Hämolysebildung, auf die Fähigkeit Gelatine zu verflüssigen und Plasma zur Gerinnung zu bringen sowie der Tierversuch. Nur pathogene Staphylokokken werden von einem hochwertigen polyvalenten Kaninchenimmunsrum, das durch intravenöse Injektion abgetöteter frisch aus Krankheitsherden gezüchteter Staphylokokken gewonnen ist in hoher Verdünnung agglutiniert. Die Hämolysebildung wird durch Aussaat auf Kaninchenblutagarplatten (15) geprüft. Die Blutplatten werden am besten stets frisch vor ihrem Gebrauch hergestellt sie sollen tiefrot gefärbt sein. Pathogene Staphylokokken lassen schon nach 24stündiger Bebrütung bei 37° auf diesen Platten ausgesprochene Hämolysebildung erkennen. Ihre Kolonien sind von einem hellen Hof umgeben. Auch saprophytische Staphylokokken können auf Kaninchenblutagar Hämolyse hervorrufen doch geschieht dies langsamer oft erst nach drei Tagen und in schwächerem Grad als bei den pathogenen Formen. Alle pathogenen Staphylokokken verflüssigen Gelatine innerhalb 24 Stunden. Saprophytische Staphylokokken verflüssigen Gelatine überhaupt nicht oder erst nach mehr tägigem Wachstum

Plasmagerinnung Durch Herzpunktion gewonnenes Kaninchenblut wird mit 20%igem Natriumcitrat im gleichen Teilengemischt. In 1 cm³ des Citratblutes oder Citratplasmas wird eine Öse einer 24stündigen Kultur gut verneben. Pathogene Staphylokokken bringen das Plasma nach ein- bis zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank zur Gerinnung.

Tierversuch Eine Öse einer 24stündigen Kultur wird am Hinterschenkel eines Kaninchens in eine 1 bis 2 cm tiefe Hauttasche verimpft. Pathogene Staphylokokken rufen nach zwei bis drei Tagen Schwellung, Eiterung und Nekrose hervor

Zur Zuchtung der Typhus- und Paratyphusbacillen aus dem Blut dient das von *Conradi* und *Kayser* angegebene Anreicherungsverfahren in Galle. Nach *Conradi* wird frische Rindergalle mit 10% Pepton und 10% Glycerin versetzt. *Kayser* benützt Rindergalle ohne jeden Zusatz.

Die im Laboratorium aus der Gallenblase entleerte Galle wird eine Viertel Stunde im Dampftopf gekocht und filtriert. Darauf erfolgt Zusatz von 10% Pepton kochen bis zu seiner Auflösung, Zusatz von 10% Glycerin Abfüllen zu je 10 cm³ in sterile Reagensgläser und Sterilisation durch halbstündiges Kochen an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Die Galleröhrchen müssen kühl aufbewahrt werden.

Das Galleröhrchen wird mit circa 2·0 cm³ Blut oder mit Blutkuchen beimpft und gut durchgeschüttelt. Auch kleinere Blutmengen werden nach dieser Methode häufig mit positivem Resultat untersucht. Der Blutkuchen wird nach Abgießen des Serums das zur *Widal'schen* Reaktion dient direkt in ein Galleröhrchen übertragen. Zu Züchtungszwecken aus den Blutkuchen kann auch tryptin-haltige Galle benutzt werden.

Zu 10 cm³ Glycerin pur sterilis. werden 2 g Tryptin Gröbler zugefügt. Die Mischung wird zur Lösung des Tryptins acht Tage im Brutschrank und dann acht Tage im Eischrank gehalten. Während dieser Zeit muß öfter umgeschüttelt werden. Es resultiert eine bräunliche Lösung, von der 0·1 bis 0·5 cm³ zu 5 cm³ Galle zugesetzt werden.

Verwendet man die gewöhnlichen Galleröhrchen so empfiehlt es sich vor der Impfung den Blutkuchen zu verkleinern indem man ihn mit steriler Schere zerschneidet oder mit einem sterilen Glasstab zerquetscht oder mit sterilen Perlen schüttelt.

Das mit dem Blut beschuckte Galleröhrchen kommt auf 24 Stunden in den Brutschrank, dann werden ihm ohne es zu schütteln von der Oberfläche mehrere Tropfen mit steriler Pipette entnommen und auf einer Agarplatte mit dem Glasspatel verrieben. Die Prüfung der Platten erfolgt nach 18- bis 48stündiger Bebrütung in der üblichen Weise. Sind die Platten nach dieser Zeit steril geblieben so wird die inzwischen weiter bebrütete Gallenkultur bis zu sechs Tagen beobachtet und wiederholt auf Agarplatten abgeimpft.

Die Untersuchung des Blutes auf Typhusbacillen eignet sich besonders zur Frühdiagnose des Typhus weil

die Krankheitserreger sich schon in den ersten Tagen der Erkrankung im Blut nachweisen lassen. Sie finden sich auch während des Fieberanstieges und der Continua im Blut später dagegen gelingt ihr Nachweis nicht. Das Verfahren kann auch auf der Höhe des Fiebers versagen wenn die Krankheit einen sehr milden Verlauf nimmt.

Bang Infektion. Die Bang Bacillen und kleine, kokkenähnliche, unbewegliche, gramnegative Stäbchen deren Züchtung aus dem Blut der Erkrankten großen Schwierigkeiten begegnet. Das Blut wird auf der Höhe des Fiebers entnommen. Das Bacillen wachsen in der ersten Generation nur in sauerstoffarmer Luft. Das frisch entnommene Blut oder zerkleinerter Blutkuchen werden in einen 100-cm³ Kolben mit etwa 80 cm³ Bouillon übertragen. In die Luft über der Bouillon, nicht in diese selbst, läßt man aus einer CO₂ Bombe eine bis zwei Minuten CO₂ einströmen und verschließt den Kolben mit einem paraffinierten Wattestopfen, der mit einer Nadel durchstochen wird, um zu verhindern, daß er in den Kolben, in dem leicht durch Absorption des CO₂ ein Vacuum entsteht, hineingezogen wird. Nach einer bis zwei bis drei Wochen werden Ausstriche auf Levinthal Agar gemacht, auf dem sich glasige, durchsichtige, leicht gelblich gefärbte Kolonien langsam entwickeln. Die Platten stellt man in einen gut verschließbaren Exsiccator auf dessen Boden sich Natriumcarbonat und eine kleine Schale mit H₂SO₄ befinden. Durch leichtes Neigen des Exsiccators kippt man die Schale um. Es kommt dann sofort zur CO₂-Entwicklung. Bei Weiterzucht wachsen die Bang-Bacillen schließlich auch in gewöhnlicher Atmosphäre. Über die Widal'sche Reaktion bei Banginfektion vgl. S. 408.

Zu der Gruppe der Bangbacillen (Brucella-Gruppe) gehört der Erreger des *Maltafiebers* (*Brucella melitensis*), der große Ähnlichkeit mit den Bangbacillen zeigt. Maltafieber kommt nicht nur auf Malta und in den Mittelmeerländern vor, sondern auch in USA., Afrika und Asien. Die Differentialdiagnose beider Arten kann hauptsächlich auf Grund kultureller Eigenschaften gestellt werden. Näheres bei *Kristensen* Zentralbl. für Bakteriologie Bd 120 (1931). In Deutschland ist Maltafieber nicht beobachtet worden.

Eine weitere Infektionskrankheit, die mit den oben erwähnten in Beziehung steht, ist noch hier zu vermerken, nämlich die *Tularämie*. Der Erreger *Bacillus tularensis*, wird auf Menschen von Nagetieren übertragen. Die Krankheit ist in Nordamerika, Sibirien, im Wolga gebiet, Nord und in Mitteleuropa beobachtet worden. Die Sera der Patienten zeigen übergreifende Agglutination mit Bang- und Maltafieberbacillen. Näheres bei *Pöppe D. d. W.* 37 Nr 26.

III. Untersuchung des Blutes mit Hilfe des Tierversuches.

Das Tierexperiment kommt bei Untersuchung des Blutes vor allem in Frage beim Nachweis von Milzbrand, Pestbacillen, Streptokokken, Tuberkelbacillen, Trypanosomen und Sprochäten der Weissen Krankheit.

Milzbrandbacillen Als Versuchstiere dienen

punktion gewonnene Blut in Mengen von 0.2 bis 0.3 cm³ bzw. 1.0 cm³ subcutan injiziert wird. Enthält das Untersuchungsmaterial Milzbrandbacillen so gehen die Tiere an Milzbrandbakteriämie zugrunde und man kann die Bacillen im Blut und in den Organen mikroskopisch und kulturell nachweisen.

Zur Untersuchung auf Pestbacillen wird das Blut auf Ratten oder Meerschweinchen verimpft.

Zum Nachweis von Streptokokken im Blut liefert der Tierversuch nicht so sichere Resultate wie das Kulturverfahren da Streptokokken die für Menschen pathogen sind sich im Tierversuch als unwirksam erweisen können. Als Versuchstier dient die weiße Maus der 0.5 bis 1.5 cm³ Blut oder Blutserum intraperitoneal eingespritzt werden. Enthält das Blut für Mäuse pathogene Streptokokken, so gehen die Tiere an Streptokokkenbakteriämie zugrunde.

Tuberkelbacillen. Es werden 3 bis 6 cm³ Blut Meerschweinchen subcutan eingeimpft.

Spirochäten der Weil'schen Krankheit (ansteckende Gelbsucht Ikterus infectiosus). Die Spirochaeta ikterogenes läßt sich im Laufe der ersten Krankheitswoche am sichersten in den ersten drei Tagen der Erkrankung durch intraperitoneale oder intracardiale Überimpfung von 3 bis 5 cm³ Blut auf Meerschweinchen nachweisen. Die Tiere gehen meist nach kurzer Zeit plötzlich zugrunde. Am lebenden erkrankten Tier gelingt der Nachweis der Spirochäten durch Untersuchung des mit einer Glascapillare entnommenen Peritonealexsudates im Dunkelfeld. Bei der Sektion finden sich die Spirochäten vor allem fast regelmäßig in der Leber. Ihr Nachweis gelingt in 6 bis 24 Stunden nach *Giemsa* bei 37° gefärbten Ausstrichpräparaten in denen sie sich ähnlich wie die Pallida blaß-rotlich färben und im Dunkelfeld oder nach *Burn* Die Ausstrichpräparate werden am besten in Osmiumdämpfen fixiert (s. S. 511). Die Spirochäte ist sehr zart und schlank. Durch die Dreiteilung ihres Körpers in ein dickeres Mittelstück und deutlich abgesetzt erscheinende hakenförmig

umgebogene Enden an deren Spitze oft ein runder stark lichtbrechendes und gut färbbares Endkorn erkennbar ist erhält sie eine Kleiderbügelartige Form. Im Dunkelfeldpräparate zeigt die Spirochäte eine charakteristische rotierende Vorwärtsbewegung die durch quirlartige Rotation der umgebogenen Enden zustande kommt wobei die Windungen des Mittelstückes erhalten bleiben.

In 80% der klinisch verdächtigen Fälle gelingt die Züchtung der Spirochäte aus dem Blute des Patienten. Es werden 0,2 cm³ Venenblut auf Uhlenbuthröhrchen übertragen, die 3 cm³ im Verhältnis 1:10 mit Wasser verdünnten inaktivierten Kaninchenserums enthalten. Der Nährboden wird mit flüssigem Paraffin überzichtet. Die Kultur wird in einem Zeitraum zwischen 8 und 30 Tagen, im Durchschnitt in etwa 10 Tagen positiv.

Auch aus dem Harnsediment gelingt sowohl kulturell als auch durch Tierversuch der Nachweis der Spirochäte noch zu einer Zeit der Erkrankung wenn die Blutkultur schon vermagt.

IV Serundiagnostik.

Die Serundiagnostik beruht auf folgender Tatsache: Gelangen in einen Organismus Bakterien oder körperfremde Eiweißarten, so vermag er spezifische Reaktionsprodukte zu bilden die als Antikörper bezeichnet werden. Substanzen, die spezifische Antikörper erzeugen nennt man Antigene. Zu den Antikörpern, die im Blutserum gefunden werden, gehören die Agglutinine, Bakterio- Hamolyse, Antitoxine, die bakteriotropen Substanzen, Opsonine *Wright* sowie die Präcipitine.

Agglutinine besitzen die Fähigkeit in das Serum gebrachte Bakterien zu immobilisieren und zu makroskopisch sichtbaren Häufchen zusammenzuballen (Agglutination).

Bakterio- und Hamolyse bringen Bakterien bzw rote Blutkörperchen zur Auflösung. Die Bakterio- und Hamolyse verlaufen unter den gleichen Bedingungen.

Durch die bakteriotropen Substanzen und Opsonine werden die Bakterien so verändert, daß sie von Phagocyten aufgenommen und verdaut werden können.

Die Wirkung der Präcipitine äußert sich durch Niederschlagsbildung beim Zusammenreffen mit dem homologen Präcipitogen (der Substanz, die das Präcipitin erzeugt hat). Der Niederschlag selbst heißt Präcipitat.

Alle diese Antikörper sind spezifischer Natur weil sie nur gegen die Bakterien- bzw Eiweißart wirken, durch sie erzeugt sind; so bilden Choleravibriosen Agglutinine, die nur auf diese selbst, aber nicht auf andere Vibriosen oder z. B. Typhusbacillen einwirken. Spritzt man einem Kaninchen rote Blutkörperchen vom Hammel ein, so entstehen in seinem Serum Hamolyse die nur Hammelblutkörperchen auflösen.

Agglutination. Die Agglutination hat nach zwei Richtungen hin praktische Verwendung gefunden sie dient erstens zur Identifizierung von Bakterien und

zweitens zur Diagnose einer Reihe von Infektionskrankheiten (*Gruber Widalsche Reaktion*)

1 Zur Identifizierung einer Bakterienart muß die Agglutinationsprobe mit einem Serum angestellt werden das von einem Tier stammt das mit einem Stamm der betreffenden Spezies vorbehandelt ist. Die Immunisierung zur Erzeugung von Agglutininen geschieht durch intravenöse Einspritzungen steigender Dosen von Bakterien die durch ein bis zweistündiges Erwärmen im Wasserbad von 55° abgetötet sind. Zur Anstellung der Agglutinationsprobe sind nur hochwertige Sera geeignet d. h. Sera die noch in starker Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung den zur Immunisierung verwandten (homologen) Stamm agglutinieren. Die Endverdünnung in der noch gerade deutliche Agglutination eintritt, bezeichnet man als Titer des Serums.

Das geprüfte Bacterium gehört zu der Art die zur Herstellung des Serums gedient hat wenn es von ihm in einer solchen Titer nahelkommenden Verdünnung agglutiniert wird. In Verdünnungen geringeren Grades vermag ein Immunserum häufig nicht nur die zur Immunisierung verwandte Spezies sondern auch andere ihr nahestehende Bakterien zu agglutinieren (Mitagglutination). Es handelt sich dann um Bakterien mit gemeinsamen Partialantigenen. So agglutiniert ein Typhusserum in starken Konzentrationen oft auch Coli und Paratyphusbacillen.

Der negative Ausfall der Agglutinationsprobe spricht nicht unbedingt gegen die Zugehörigkeit des geprüften Bacteriums zu der Art mit der das Serum liefernde Tier vorbehandelt ist da schwer agglutinable Bakterien vorkommen die von einem hochwertigen Serum gar nicht oder nur in stärkerer Konzentration beeinflußt werden. Nach mehrfacher Überimpfung auf künstliche Nährböden können diese Bakterien leichter agglutinabel werden. Zur Züchtung maximal agglutinabler Typhusstämme wird 1%iger Galaktoseagar als Nährboden empfohlen.

Von der Mitagglutination zu trennen ist die sogenannte Paragglutination. Bei der Untersuchung der Stühle von Ruhr und Typhuskranken fanden Kaks und Waks auf den Platten Kolonien von Coli- Alkaligenes- und anderen Bakterien, auch von Kokken die von Ruhr bzw Typhuserum noch in hohen Verdünnungen agglutiniert wurden. Diese Eigenschaft ging jedoch schon nach mehreren Überimpfungen wieder verloren. Die Autoren nannten dieses Phänomen Paragglutination und erklärten es als eine durch Zusammenleben mit den eigentlichen Infektionserregern im erkrankten Organismus erworbene Eigenschaft. Abgesehen von der Vergänglichkeit der Erscheinung unterscheiden sich Paragglutination und Mitagglutination auch dadurch, daß letztere nur bei phylogenetisch verwandten Bakterien, erstere auch zwischen einander vollständig fernstehenden Arten vorkommt. Der Nachweis paragglutinierender Bakterien hat insofern diagnostische Bedeutung als ihr Vorkommen zeigt daß der Organismus noch spezifische Krankheitserreger beherbergt. Sie werden infolgedessen als „Leitbakterien“ bezeichnet.

Ausführung der makroskopischen quantitativen Agglutinationsprobe Von dem Immunsérum dessen Titer bekannt ist werden mit 0.85% steriler vollkommen klarer durch ein gehärtetes Filter filtrierter Kochsalzlösung mittels graduierter Pipetten Verdünnungen hergestellt

Man macht zunächst eine 100fache Verdünnung des Sérum (A) (0.1 cm³ Sérum + 9.9 cm³ Kochsalzlösung) und eine 1000fache (B) Verdünnung (1.0 cm³ 100fache Sérum verdünnung + 9 cm³ Kochsalzlösung) Dann bringt man in

Reagensglas		Sérum- verdünnung
1	1.0 cm ³ A	= 1:100
2	0.5 " " + 0.5 Kochsalz	= 1:200
3	0.25 " " + 0.75 " "	= 1:400
4	1.0 " B	= 1:1000
5	0.5 " " + 0.5 " "	= 1:2000
6	0.25 " " + 0.75 " "	= 1:4000
7	0.2 " " + 0.8 " "	= 1:5000 usw

Jedes Versuchsöhrchen enthält 1 cm³ der Sérum verdünnung in die eine volle Öse der zu prüfenden 18- bis 24stündigen Schrägagarkultur aufs sorgfältigste verrieben wird. Die Kultur wird zuerst an der Wand des Öhrchens oberhalb der Flüssigkeitgrenze abgestrichen und darauf allmählich mit der Flüssigkeit verrieben bis alle mit bloßem Auge sichtbaren Klümpchen verschwunden sind und eine

gleichmäßige Emulsion entstanden ist. Man kann auch so verfahren, daß man die Schrägagarkultur mit zirka 2 cm³ Kochsalzlösung abschwemmt, die Aufschwemmung grundlich schüttelt und nun zu jeder Serumverdünnung einen Tropfen davon zusetzt.

Folgende Kontrollen sind notwendig: 1. Immunserum und eine homologe Kultur, um zu zeigen, daß das Immunserum noch den angegebenen Titer besitzt. 2. Normales Serum der Tierart, von der das Immunserum stammt, und die zu prüfende Kultur, um festzustellen, daß diese nicht schon von dem normalen Serum agglutiniert wird. Je nach dem Titer des spezifischen Serums wird das normale in 10- bis 100facher Verdünnung angesetzt. 3. Die zu prüfende Kultur und Kochsalzlösung, um zu zeigen, daß die Kochsalzlösung nicht agglutinierend wirkt.

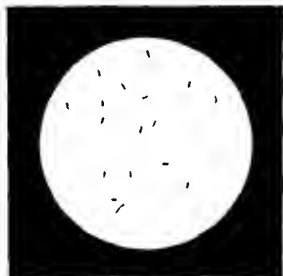
Die Röhrchen kommen auf zwei Stunden in den Brutschrank bei 37° oder werden eine Stunde bei 55° gehalten und dann geprüft. Werden Bacillen der Paratyphus-Enteritis Gruppe untersucht, so wird die erste Ablesung nach halbstündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur vorgenommen, weil zu dieser Zeit noch keine körnige Agglutination (s. u.) eingetreten ist, und nach zweistündiger Bebrütung bei 37° wiederholt. Bei unbeweglichen Bakterien wird der Ausfall der Reaktion erst nach 20- bis 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten festgestellt. Durch wiederholtes leichtes Hin- und Herbewegen der Versuchsröhrchen, wodurch die Bakterien leichter miteinander in Berührung kommen, wird der Eintritt der Agglutination bei unbeweglichen Bakterien beschleunigt. Die Kontrollen 2 und 3 müssen während der Beobachtungsdauer gleichmäßig getrübt bleiben. Kontrolle 1 muß in einer dem Titer des Serums entsprechenden Verdünnung Agglutination zeigen.

Die Prüfung wird in der Weise vorgenommen, daß das Röhrchen waagrecht über Kopfhöhe gehalten und die Serumverdünnung von unten nach oben in dünner Schicht angesehen wird. Ist Agglutination eingetreten, so sieht man die klare Flüssigkeit von kleinen Häufchen erfüllt. Bleiben die Reagens

gläser ruhig stehen so vergrößern sich mit dem allmählichen Fortschreiten der Agglutination die Häufchen sanken zu Boden und die Serumkochsalzmischung erscheint schließlich vollkommen klar

In zweifelhaften Fällen kann der Ausfall der Probe unter dem Agglutinoskop oder durch Untersuchung im

Fig. 46.



Nichtagglutinierte Typhusbacillen im hängenden Tropfen.
Untersuchung mit Ölimmersion

hängenden Tropfen mittels schwacher (etwa 50facher) Vergrößerung kontrolliert werden. Bei echter Agglutination sieht man das Gesichtsfeld von krümeligen fast sternenförmigen Häufchen verschiedener Größe erfüllt (vgl. Fig. 47). Bei Untersuchung mit stärkerem System erkennt man die einzelnen Bakterien aus denen die Häufchen sich zusammensetzen und sieht meist zwischen den Häufchen einzelne freie Bacillen (vgl. Fig. 47). Ist keine Agglutination eingetreten so erscheint bei Betrachtung

in NaCl Lösung angestellt oder mit lebenden Bacillen, wenn ein Serum zur Verfügung steht das durch Immunisierung mit auf 100° erhitzten Bacillen erzeugt ist. Der O-Titer der Sera ist meist niedrig. Der Versuch muß daher mit konzentrierten Serumverdünnungen etwa 1 : 200 bis 1 : 600 angestellt werden.

Orientierende Agglutinationsprobe. Die orientierende Agglutinationsprobe kommt zur Anwendung um auf den mit dem Untersuchungsmaterial beimpften Platten verdächtige Kolonien herauszufinden. Mit einer Platinnadel wird eine ganz geringe Menge der zu prüfenden Kolonien abgestochen und auf einem Objektträger in einem Tropfen der Serumverdünnung von 1 : 50 bis 1 : 400 (je nach dem Titer des Serums) und zur Kontrolle gleichzeitig in einem Tröpfchen Kochsalzlösung sorgsam verrieben. Die Untersuchung erfolgt makroskopisch oder mit der Lupe. Erscheint der von dem spezifischen Serum stammende Tropfen sofort von kleinen Häufchen erfüllt, während der Kontrolltropfen vollkommen homogen geblieben ist, so ist die Agglutination als positiv zu bezeichnen und die untersuchten Bakterien gehören wahrscheinlich der Art an, die zur Herstellung des bei der Prüfung benutzten Serums gedient hat. Der Rest der Kolonie wird zur Zucht einer Reinkultur auf schräg erstarrtem Agar übertragen (vgl. S. 133).

Die Serumverdünnung von 1 : 50 ist kühl und dunkel aufbewahrt längere Zeit haltbar.

Über Probeagglutination bei Dysenterie vgl. S. 144.

Der negative Ausfall der Probeagglutination spricht nicht gegen die Zugehörigkeit der Bakterien zur gesuchten Art. Bei positivem Ergebnis der Reaktion ist besonders bei Untersuchung von Ruhrplatten an das Vorkommen paragglutinierender Bakterien zu denken.

2 Gruber Widalsche Reaktion. Die Gruber Widalsche Reaktion beruht auf der Beobachtung Widals, daß das Blutserum von Typhusrekonvaleszenten und Typhus-

kranken eine agglutinierende Wirkung auf Typhusbacillen auszuüben vermag

Das Blut (0·5 bis 2 cm^3) wird durch Venenpunktion, blutigen Schröpfkopf oder Einstich in die Fingerkuppe gewonnen. Im letzteren Falle werden die ausgedrückten Tropfen mit einer gut ausgezogenen Pipette mit Gummischlauch aufgenommen und in ein kleines Zentrifugenröhrchen übertragen. Nachdem das Blut geronnen ist, wird der Blutkuchen mit steriler Platinnadel von der Wand des Glases abgelöst. Das Blutröhrchen wird zum Absetzen des Serums kühlgestellt oder sofort zentrifugiert.

Von dem gewonnenen Serum werden mit gut filtrierter steriler 0·85%iger Kochsalzlösung Verdünnungen hergestellt. Man macht zunächst eine 50fache Verdünnung, z. B. 0·1 Serum + 4·9 Kochsalzlösung und zentrifugiert sie, wenn erforderlich zur vollkommenen Klärung. Dann bringt man in das erste und zweite Reagensglas je 1 cm^3 dieser Serumverdünnung in das zweite dritte vierte und fünfte Reagensglas je 1 cm^3 Kochsalzlösung. Nach Mischung überträgt man aus dem zweiten Reagensglas 1 cm^3 in das dritte aus dem dritten 1 cm^3 in das vierte, aus dem 1 cm^3 herausgenommen und fortgeblasen wird. Das fünfte Reagensglas enthält nur 1 cm^3 Kochsalzlösung und dient als Kontrolle.

Steht wenig Serum zur Verfügung so kann der Versuch anstatt mit 1 cm^3 mit 0·5 oder 0·25 cm^3 Serum verdünnung angesetzt werden.

Reagensglas I	enthält eine Serumverdünnung von	1 50
II		1 100
III		1 200
IV		1 400
V	1 cm^3 Kochsalzlösung (Kontrolle)	

Gruber Widal'sche Reaktion bei Typhus und Paratyphus. Zur Untersuchung werden 18- bis 24stündige Schragagarkulturen verwandt.

Da die Patientensera reine H oder O-Sera sein können müssen zur Anstellung der Reaktion Stämme ausgewählt werden die O- und H Antigen enthalten. Die Kulturen müssen leicht agglutinabel sein und infolge der vorkommenden Antigenschwankungen bei jedem Versuch

mit Immunserra auf ihre Brauchbarkeit geprüft werden. Es empfiehlt sich die Reaktion mit folgenden Stämmen anzusetzen 1 mit einem Typhusstamm der mit einem Typhusimmunserra starke flockige mit einem Gärtner Serum körnige Agglutination gibt also O- und H Antigen enthält 2 mit einem gemischt spezifisch unspezifischen Schottmüller' Stamm 3 mit einem Paratyphus C Stamm Als besonders geeignet hat sich der Typus Potsdam erwiesen

Die Serumverdünnungen werden in drei Reihen angesetzt In Reihe 1 wird in jedes Röhrchen eine Öse der Typhuskultur in Reihe 2 und 3 eine Öse der Schottmüller bzw. Potsdam Kultur in der S 397 beschriebenen Weise verimpft. Das Ansetzen einer Reihe mit Paratyphus A kann wegen des überaus seltenen Vorkommens dieser Infektion bei uns in der Regel unterbleiben Bei größeren Untersuchungsreihen ist es bequemer dicke gut verriebene und geschüttelte Bakterienaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung von den Schrägagar kulturen herzustellen und jedem Röhrchen einen Tropfen davon zuzusetzen (vgl. S 398) Die erste Ablesung erfolgt nach halbstündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur dann kommen die Röhrchen auf zwei Stunden in den Brutschrank von 37° oder werden eine Stunde bei 55° gehalten und nochmals untersucht Ist jetzt keine Agglutination eingetreten so bleiben die Röhrchen noch zwölf Stunden bei Zimmertemperatur stehen und werden dann von neuem geprüft

In der Regel werden nur die oben genannten Serum verdünnungen geprüft und erst wenn in der 400fachen Verdünnung Agglutination eintritt wird die Untersuchung weitergeführt Es ist notwendig, das Serum stets auszutitrieren d. h. zu bestimmen bis zu welcher Verdünnung sein Agglutinationsvermögen reicht. Bei Typhusinfektion findet nämlich nicht selten eine mehr oder weniger starke Mitagglutination der Bacillen der Paratyphusgruppe statt das umgekehrte Verhalten kommt gleichfalls be-

sonders bei Infektionen mit Gärtnerbacillen vor. In solchen Fällen wird mit Wahrscheinlichkeit die Bakterienart der Krankheitserreger sein, die von dem Serum in der höchsten Verdünnung agglutiniert wird.

An Stelle der in ihrem Antigengehalt schwankenden lebenden Kulturen können Daueremulsionen zur Anstellung der *Widal'schen Reaktion* verwendet werden. Besonders für kleinere Laboratorien sind diese sehr geeignet. Außer den üblichen Formalinemulsionen empfiehlt es sich, auch Alkoholemulsionen geeigneter Stämme zu benutzen; erstere ergeben eine reine H-, letztere eine reine O-Agglutination.

Nach *Prescher* wird die Formalinemulsion in folgender Weise hergestellt: Eine 24stündige, gut bewachsene Bouillonkultur wird durch Zusatz von 1% Formalin abgetötet. Die Formalintyphusbouillon bleibt in einem hohen Meßzylinder zwei Tage bei 37°. Dabei bildet sich ein Bodensatz, von dem die Formalinbouillon abgeseiht wird. Diese hält sich im Einschrank wochenlang gebrauchsfähig, nur muß sie vor jedem Gebrauch umgeschüttelt werden.

Alkoholemulsion. Eine gut bewachsene, 24stündige Agarkultur wird mit 0,5%iger Carboll Kochsalz-Lösung abgeschwemmt und nach 24 Stunden vom Bodensatz in einen Meßzylinder abgeseiht. Zu 45 cm³ der Emulsion werden 90 cm³ absoluter Alkohol unter beständigem Umrühren zugesetzt. Nach 24stündigem Stehen wird die überstehende Flüssigkeit vom Bodensatz abgeseiht und in Flaschen gefüllt.

Zur Anstellung der Reaktion wird das Serum 1 : 85 mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt. Die weiteren Serumverdünnungen werden in der S. 403 beschriebenen Weise vorgenommen. Zu jedem Röhrchen wird dann 0,6 cm³ der Bakterienemulsion zugesetzt, wodurch die Serumverdünnung verdoppelt wird. Es werden so Serumverdünnungen von 1 : 50 bis 1 : 400 hergestellt. Nach zwanzigstündiger Bebrütung bei 37° wird das Resultat abgelesen.

Fickers Diagnosticum und die von der Firma „Labopharma“ vertriebene Bakterienemulsionen entsprechen den Formalinemulsionen. Von den Labopharma-Emulsionen wird ein Tropfen dem Serumverdünnungen zugesetzt.

Die Ausführung der *Flicker'schen Reaktion* geschieht in der Weise, daß man das zu prüfende Serum auf das Zehnfache mit steriler 0,85%iger Kochsalzlösung verdünnt und mittels graduierter Pipette von dieser Serumverdünnung beispielsweise 0,2 und 0,1 cm³ in je ein Glaschen 1 und 2 überträgt.

Zu Glaschen 1 wird dann 0,8 cm³ zu Glaschen 2 0,9 cm³ des Diagnosticum zugegeben. Ein weiteres Glaschen enthält 1 cm³ Diagnosticum ohne Serumzusatz (Kontrolle). Die Glaschen läßt man bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt stehen. Nach 10–12 bis 14 Stunden wird das Resultat abgelesen; länger wie 30 Stunden darf mit der Feststellung des Resultates nicht gewartet werden.

Bei der Beurteilung des Resultates der *Widal'schen Reaktion* sind folgende Punkte zu beachten: durch die die Bedeutung der Reaktion für die Typhusdiagnose eine Einschränkung erfährt.

1 Die Reaktion tritt meist erst in der zweiten Krankheitswoche ein. Sie kann aber auch während des ganzen Krankheitsverlaufes fehlen und erst in der Rekonvaleszenz auftreten. Der negative Ausfall der Probe ist daher diagnostisch nicht verwertbar.

2 Das Serum gesunder oder an anderen Krankheiten leidender Menschen, die auch nachweislich keinen Typhus überstanden haben, kann Typhusbacillen in hohen Konzentrationen des Serums agglutinieren. Tritt bei 100facher Serumverdünnung makroskopisch erkennbare Häufchenbildung ein, so ist die Diagnose Typhus bzw. Paratyphus wahrscheinlich, wenn der Patient nicht im Laufe der letzten vier bis fünf Monate an diesen Erkrankungen gelitten hat. Eine Stütze erfährt die Diagnose, wenn bei wiederholter Untersuchung ein Ansteigen des Agglutinationstiters zu beobachten ist.

3 Bei Patienten, die gegen Typhus geimpft waren, besitzt das Agglutinationsphänomen keine diagnostische Bedeutung, es sei denn, daß die Schutzimpfung wenigstens zehn Monate zurückliegt.

Bei unkomplizierten Fällen von Infektionen mit *Enteritidis bacillen* fällt die *Widal'sche* Reaktion meist negativ aus.

Bei Umgebungsuntersuchungen zur Feststellung von Bacillenträgern kann die Agglutinationsprobe gute Dienste leisten. Da sie bei Bacillenträgern positiv ausfällt, stellt man zunächst die *Widal'sche* Reaktion an und nimmt nur bei den Personen eine kulturelle Untersuchung der Faeces vor, deren Serum in einer Verdünnung von 1:25 Typhus- bzw. Paratyphusbacillen agglutiniert.

Die Agglutinationsprobe vermag den direkten Nachweis des Krankheitserregers nicht zu ersetzen.

Bei der Bang Infektion ist die Diagnose schon frühzeitig auf Grund der Agglutinationsprobe zu stellen.

Man benutzt hierzu eine Kochsalzabschwemmung einer zwei bis dreitägigen Schrägagarkultur. Auch nach der *Prosserschen* Methode hergestellte Bouillonkulturen sind verwendbar (vgl. S. 40a). Der positive Ausfall in

200facher Serumverdünnung berechtigt zur Diagnose Bang Infektion. Zu beachten ist das Vorkommen sogenannter stummer Zonen d. h. das Ausbleiben der Agglutination in schwachen Serumverdünnungen und ihr Wiedereintreten in stärkeren Verdünnungen. Die Reaktion ist meist schon am Ende der ersten oder im Laufe der zweiten Krankheitswoche positiv und bleibt es noch lange nach Ablauf der Krankheit.

Um möglichst viele Bang Infektionen zu erfassen empfiehlt es sich beim Typhus-Widal stets noch eine Reihe Serumverdünnungen zur Prüfung gegenüber Bang Bacillen anzusetzen.

Bei Dysenterie fällt die *Gruber Widsalsche* Reaktion im Beginne der Erkrankung in der Regel negativ aus. Meist sind erst in der zweiten bis dritten Krankheitswoche oder in der Rekonvaleszenz Agglutinine in diagnostisch verwertbarer Menge im Serum nachweisbar. Die *Widsalsche* Reaktion hat daher bei Dysenterie weniger Wert für die Frühdiagnose als für die Feststellung abgelaufener Fälle.

Die Reaktion wird nach der bei Typhusuntersuchung geschilderten Methode mit einem Shiga Kruse einem Schmutz Kruse-Sonne und einem Flexner Stamm an gestellt. Da nicht alle Flexner Stämme zu diesem Zwecke geeignet sind dürfen nur Kulturen verwendet werden die vorher gegenüber einer Anzahl Normal und Immunsera auf ihr spezifisches Verhalten geprüft sind. Es empfiehlt sich wenn möglich einen Stamm zu benutzen der aus der betreffenden Epidemie stammt.

Im allgemeinen gilt eine Agglutination der Shiga Bacillen in einer Serumverdünnung von 1:50 der gift armen Bacillen in einer Serumverdünnung von 1:150 als ausschlaggebend für die Diagnose. Dabei ist zu beachten daß die Shiga Patientensera auch Mitagglutinine für atoxische Stämme in erheblicher Menge enthalten.

Die Bedeutung der *Widsalschen* Reaktion für die Ruhrdiagnose wird durch die vielfach gemachte Beobachtung eingeschränkt daß das

Serum von Kranken, die nicht an Dysenterie leiden, Agglutinine für Ruhrbacillen enthalten kann. Meist handelt es sich um Patienten, die gegen Typhus geimpft sind, aber auch bei Nichtgeimpften ist dieses Verhalten beobachtet. Es dürfte sich daher empfehlen, das Serum stets auch gleichzeitig gegen Typhus- und Paratyphusbacillen zu prüfen und das Resultat der Agglutination nur dann diagnostisch zu verwerten, wenn diese Bakterien überhaupt nicht oder in wesentlich geringerem Grade als Ruhrbacillen agglutiniert werden. Von einzelnen Untersuchern wird der Agglutination mit Flexnerbacillen überhaupt jede Bedeutung für die Diagnose abgesprochen.

Die Anstellung der *Widalschen* Reaktion bei *Meningitis epidemica* ist von geringer praktischer Bedeutung, da die spezifischen Agglutinine nur sehr unregelmäßig im Patientenserum nachweisbar sind. *Langelsheim* empfiehlt die Verwendung fertiger Aufschwemmungen von Meningokokken, die in folgender Weise hergestellt werden: Eine völlig bewachsene Aschtesagarplatte wird mit 40 cm³ 0·9%iger Kochsalzlösung unter Zusatz von 0·1 cm³ Formalinlösung abgeschwemmt. Die Aufschwemmung wird eine halbe bis eine Stunde auf 50 bis 70° erhitzt und dadurch leichter agglutinabel gemacht. Die Ausführung der Reaktion erfolgt nach der S. 405 angegebenen Methode. Man geht von dem zehnfach verdünnten Serum aus.

Als positiv gilt komplette Agglutination des Meningokokkus bei 1 : 25, inkomplette bei 1 : 50.

Für die Frühdiagnose der Cholera und Pest ist die Agglutinationsprobe nicht verwertbar, sie kann bei diesen Erkrankungen zur Feststellung abgelaufener Fälle herangezogen werden.

Weil-Felixsche Reaktion bei Fleckfieber

Von *Weil* und *Felix* wurden aus dem Harn Fleckfieberkranker als „X Bacillen“ bezeichnete Stäbchen gezüchtet, die in ihren wesentlichen kulturellen Eigenschaften mit den Bacillen der Proteusgruppe übereinstimmen. Über die Frage, in welchem Zusammenhang diese Bakterien mit der Erkrankung stehen, herrscht noch keine Klarheit. Fest steht jedoch, die von *Weil* und *Felix* erwiesene Tatsache, daß das Serum Fleckfieberkranker fast regelmäßig Agglutinine für X Bacillen enthält. Der positive Ausfall der Agglutinationsprobe mit einem X Bacillus sichert daher die Diagnose Fleckfieber. Unter den von *Weil* und *Felix* gezüchteten Proteusbacillen hat sich der als X₁₉ bezeichnete Stamm als besonders geeignet für die Ausführung der Reaktion erwiesen. Er bewahrt seine Agglutinationsfähigkeit am besten, wenn er auf neutralem Agar fortgezüchtet wird.

Die Reaktion wird nach der üblichen Methode mit einer Abschwemmung einer voll bewachsenen, ein bis drei Tage alten Schragagarkultur angesetzt.

Man setzt zunächst die Verdünnungen 1:25, 1:50 1:100 an und titriert erst dann höher wenn diese Proben stark positiv ausfallen. Die positive Reaktion ist oft nach 20 bis 30 Minuten Brutschrank ansehnlich deutlich erkennbar. Das Endergebnis wird nach etwa acht Stunden abgelesen. Soll der genaue Endtiter festgestellt werden, so erfolgt wiederholte Ablesung nach etwa 14 Stunden.

Sera von Fleckfieberkranken geben in 100% die Agglutination.

Es ist dabei zu berücksichtigen, daß nicht selten in den Konzentrationen von 1:25 und 1:50 durch thermolabile Hemmungsstoffe die Ausflockung verhindert wird. Durch halbstündiges Erhitzen des Serums auf 56° C wird diese Agglutinationshemmung beseitigt.

Eine komplette Reaktion von 1:50 innerhalb acht Stunden hat nach den bisherigen Erfahrungen sicher eine spezifische Bedeutung. Für die Frühdiagnose des Fleckfiebers kann aber auch schon die bei 1:25 stark positive Reaktion in spezifischem Sinn verwertet werden, wenn bei einer vorausgegangenen Untersuchung die Reaktion bei 1:25 negativ ausgefallen war. Eine einen bis zwei Tage später wiederholte Untersuchung wird dann durch starke Zunahme des Titers die Diagnose bestätigen.

Neuerdings wird von Labopharma A. G. ein halbares Weil-Felix Diagnosticum in den Handel gebracht.

Pfifferscher Versuch.

Bakteriolyse enthaltende Sera werden in der Versuchsanordnung des *Pfifferschen* Versuches insbesondere zur Identifizierung von *Cholera vibrionen* benutzt.

Die Stellung der Frühdiagnose der *Cholera* durch Nachweis bakteriolytischer Antikörper im Patientenserum mittels des *Pfifferschen* Versuches ist nicht möglich. Er kann zur Feststellung abgelaufener *Cholera* und Typhusfälle verwendet werden.

Spricht man ein bakteriolytisch wirkendes Immunsorum zusammen mit der homologen Bakterienart in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens und entnimmt nach 20 Minuten bis einer Stunde mittels Glascapillaren Tröpfchen des Bauchhöhleninhaltes, so findet man bei Betrachtung im hängenden Tropfen an Stelle der Bakterien kleine blaue Kügelchen. Schließlich verschwinden auch diese die Bakterien sind von den bakteriolytischen Stoffen des Serums vollständig aufgelöst worden. Dieser Vorgang ist ein streng spezifischer da z. B. die bakterienauflösende Wirkung eines *Cholera* Immunsorums sich nur gegen die *Cholera vibrionen*, aber nie gegen andere *Vibrien* richtet.

Hämolytischer Versuch

Werden einem Tiere rote Blutkörperchen einer anderen Tierart injiziert, so reagiert es mit der Bildung von Antikörpern welche die zur Einspritzung benutzte Blutkörperchenart so verändern, daß ihr Hämoglobin aus den Zellen austritt: die roten Blutkörperchen werden hämolytisch. Diese Hämolyse ist spezifisch. Sie wirken nur auf die Blutkörperchen der Tierart die zur Immunisierung benutzt worden ist. Die Hämolyse wird im Reagenzglasversuch im Serum des immunisierten

Richtlinien*) für die Anstellung der WaR ausgearbeitet worden, denen wir der folgenden Darstellung zugrunde legen

Zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion sind folgende Reagenzien erforderlich

- 1 Patientenserum oder Lumbalflüssigkeit.
- 2 Physiologische (0.9%ige) Kochsalzlösung
- 3 Komplement
- 4 Aufschwemmung roter Hammelblutkörperchen.
- 5 Auf rote Hammelblutkörperchen hämolytisch wirkendes Serum (Amboceptor)

6 Antigen (Extrakt)

Patientenserum. Das zur Untersuchung erforderliche Blut wird durch Venenpunktion (vgl. S. 381) oder mittels sterilen Schröpfkopfes gewonnen. Sehr geeignet sind Schröpfköpfe nach Art der Bierchen Säger mit denen ein Zentrifugenröhrchen luftdicht verbunden ist. Bei Säuglingen kann das Blut aus der Ferse nach oberflächlichem Einschnitt entnommen werden. Bei Provokationsversuchen durch Salvarsaninjektion erfolgt die Blutentnahme 24 bis 48 Stunden nach der Injektion. Man entnimmt von Erwachsenen 6 bis 10 cm³, von Kindern 3 bis 4 cm³ Blut. Das Blut wird in sterilen Zentrifugenröhrchen aufgefangen und möglichst bald nach Ablassen des Blutkuchens von der Glaswand zur Serumgewinnung zentrifugiert. Das abgeschiedene Serum wird durch halbstündiges Erwärmen im Wasserbad von 56° inaktiviert, wobei darauf zu achten ist, daß das Serum vollständig in das Wasser eintaucht. Es wird im Eisschrank aufbewahrt. Das Serum darf keine nachträgliche Trübung aufweisen, weil dadurch der Ausfall der Reaktion beeinflusst wird. Sofort nach der Entnahme sich zeigende Trübung ist bedeutungslos. Wenn ein längerer Transport bis zur Untersuchungsstelle erforderlich ist, ist die Entnahme mit den Venulen der Behringwerke zweckmäßig.

Lumbalflüssigkeit. Es sollen möglichst 4 bis 6 cm³ entnommen werden. Das Punktat soll frei von Blut sein. Inaktivieren ist nicht erforderlich.

Die Versandgefäße für Liquor sollen mit Gummistopfen nicht mit Korkstopfen verschlossen werden, die dem Liquor unter Gelbfärbung eigenhemmende Eigenschaften verleihen können.

Die physiologische Kochsalzlösung enthält 0.9%, chemisch reines Kochsalz. 9 g NaCl werden in 1 l destillierten Wassers gelöst und eine Stunde gekocht. Beim Kochen etwa verdampftes Wasser muß durch Auffüllen mit sterilem Wasser auf 1 l wieder ergänzt werden. Die frisch hergestellte Kochsalzlösung ist nach dem Sterilisieren zu schütteln.

*) Die „Anleitung für die Ausführung der WaR.“ ist als Sonderabdruck Nr. 25 zu dem Ministerialblatt für die preussische innere Verwaltung 1936, Nr. 44 erschienen und im Buchhandel zu haben.

Als Träger des Komplements dient frisches Meerschweinserserum. Es muß zum Versuch frisch entnommen werden darf jedenfalls nicht älter als 24 Stunden sein. Man benutzt zur Komplementgewinnung mittel große gut genährte nicht trüchtige Meerschweinchen. Es empfiehlt sich das Serum mehrerer Tiere zum Gebrauch zu mischen. Das Blut wird leicht mittels einer kleinen Saugglocke die an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen wird, aus dem Ohr des Meerschweinchens von dessen Rand mit einer Schere ein ganz schmaler Streifen abgeschnitten. Der Rand der über das Ohr gestulpten Glocke muß gut eingefettet sein. Die Saugöffnung der Glocke kann man mühelos entnehmen. Der Einstichpunkt kann man scharfer Nadel zwischen zweiter und dritter Rippe dicht am linken Sternastrand. Die Tiere überstehen diese Eingriffe meist recht gut. Braucht man größere Mengen Serum so kann man das Tier durch Halschnitt entbluten. Das Blut wird in Zentrifugenröhrchen gebracht und nach Ablösung des Blutkuchens von der Glaswand zur Serumgewinnung zentrifugiert.

Das Komplement wird zum Gebrauch zehnfach mit Kochsalzlösung verdünnt. Es ist am besten erst ein bis zwei Stunden nach der Entnahme zu verwenden und bis dahin im Eisschrank aufzubewahren.

Das Hammelblut wird durch Punktion der Vena jugularis des Tieres oder bei der Schlachtung gewonnen in einer sterilen weithalsigen Flasche die reichlich Glasperlen enthält aufgefangen und durch zehn Minuten langes Schütteln defibriniert. Auf Eis aufbewahrt bleibt es mehrere Tage brauchbar. Zusatz von 1 cm³ Formalin auf 700 cm³ Blut konserviert das Blut meist für ein bis zwei Wochen.

Zum Gebrauch muß das Blut mit 0.9%iger Kochsalzlösung vollkommen serumfrei gewaschen werden. Es wird

in etwa dem 10fachen Volumen Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zentrifugiert. Die in den Zentrifugenröhrchen über dem Blutkörperchensediment stehende klare Flüssigkeit wird abgegossen und durch frische Kochsalzlösung ersetzt in der die roten Blutkörperchen von neuem aufgeschwemmt werden. Das Zentrifugieren und Wiederaufschwemmen der roten Blutkörperchen wird wiederholt bis die Blutkörperchen serumfrei gewaschen sind. In der Regel genügt dreimaliges Zentrifugieren. Es ist notwendig das letzte Mal energisch zu zentrifugieren. Die überstehende Flüssigkeit wird dann mit einer Pipette bis auf den letzten Tropfen abgehoben. Dies muß sehr sorgsam geschehen weil es sonst unmöglich ist Aufschwemmungen von stets gleicher Konzentration herzustellen. Die gewaschenen Blutkörperchen werden in einer sterilen Flasche gesammelt und bleiben auf Eis aufbewahrt mehrere Tage brauchbar. Zum Gebrauch werden sie in der 20fachen Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt so daß eine 5%ige Emulsion entsteht.

Steht keine schnellgehende elektrische Zentrifuge zur Verfügung so gelingt es nicht ein von Zwischenflüssigkeit freies Sediment zu gewinnen. In solchem Falle stellt man die Aufschwemmung nur mit der 10- bis 15fachen Kochsalzmenge her je nach der Dichtigkeit des Sedimentes.

Ein bequemerer Verfahren stets gleich dichte Blutaufschwemmungen zu erhalten ist folgendes: 11 cm^3 defibrierten Gesamtblutes werden auf mehrere Zentrifugenröhrchen verteilt mit einer beliebigen Kochsalzmenge verdünnt und wie oben beschrieben serumfrei gewaschen. Beim Abheben der Flüssigkeit ist darauf zu achten daß von den Blutkörperchen nichts verlorengeht. Zum Schluß werden diese aus den Zentrifugenröhrchen restlos mit Kochsalzlösung in eine sterile Flasche gespült und mit Kochsalzlösung auf 100 cm^3 aufgefüllt.

Man stellt sich von vornherein so viel Blutaufschwemmung her wie für den gesamten Versuch erforderlich ist. Die Blutsuspension ist vor dem Gebrauch zu schütteln.

Das hämolytische Serum (Amboceptor) wird durch Immunisieren von Kaninchen mit gewaschenen Blutkörperchen gewonnen. 2 cm^3 Blutkörperchen werden in zirka 10 cm^3 auf 40° erwärmter physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in die Randvene des Ohres injiziert. Um die Vene gut hervortreten zu lassen zupft man die Haare am Rande des Ohres aus und komprimiert die Vene am Ohransatz. Die Einspritzung wird zweimal in drei bis vier tägigen Zwischenräumen wiederholt. Zu der zweiten und dritten Einspritzung verwendet man nur 1.0 bzw. 0.75 cm^3 Blut. Acht Tage nach der letzten Injektion wird dem Kaninchen eine kleine Blutprobe aus der Ohrvene entnommen. Ergibt die vergleichende Prüfung mit einem als brauchbar bekannten Amboceptor einen genügenden Hämolysingehalt des Serums so wird das Tier aus der Karotis oder Schenkelarterie unter sterilen Kautelen entblutet. 24 Stunden vor der Entblutung darf das Tier kein Futter bekommen. Das Blut wird nach dem Gerinnen mit einem Glasstab von der Glaswand abgelöst und nachdem es mehrere Stunden im Eisschrank gestanden hat zur vollständigen Abcheidung des Serums zentrifugiert. Das Serum wird durch halbstündiges Erhitzen im Wasserbad von 56° inaktiviert. Die Aufbewahrung geschieht im Eisschrank.

Zur Konservierung können zu je 10 cm^3 inaktivierten Kaninchenserums 0.8 bis 0.8 cm^3 folgender Mischung zugesetzt werden:

Na Cl 0.9%	90 cm^3
Glycerin	5 "
Ac carb liqvel	5 "

Auch steril in Ampullen eingeschmolzen halt wach der Amboceptor gut.

Als Antigene (Extrakte) dienen alkoholische Extrakte entweder aus den Lebern congenital-luetischer Foeten (Luesleberextrakte) oder in noch größerem Umfange die völlig gleichwertigen aus Rinder oder Menschenherzen (Meerschweinchenherzen sind nicht empfehlenswert). Für die Extraktbereitung kann folgende Methode empfohlen werden.

Das von Fett und Sehnen befreite Organ wird durch Verreiben mit Secund im Mörser oder mittels einer Fleischmaschine gut zerkleinert.

und mit der fünffachen Menge 98%igen Alkohols übergossen. Nach fünf tagigem Stehen bei Zimmertemperatur unter häufigem Schütteln, dessen Wirkung reichlich zugesetzte Glasperlen verstärken, wird durch ein Papier filter filtriert. Die Wirksamkeit aller alkoholischen Extrakte läßt sich nach Sacks durch Zusatz von Cholesterin steigern. Dieser Roh extrakt wird dreifach mit Alkohol verdünnt und mit verschiedenen Mengen einer 1%igen alkoholischen Cholesterinlösung beschickt, um den geeigneten Cholesteringehalt zu ermitteln. Die Cholesterinlösung stellt man sich durch Lösung von Cholesterin „Kahlbaum“ in absolutem Alkohol unter Erwärmen her. Die Lösung darf nach Abkühlen nicht ausfallen. In der Regel schwankt der optimale Cholesterinnutz zwischen 0.5 und 0.7 cm^3 auf je 5 cm^3 des dreifach mit Alkohol verdünnten Rohextraktes. Die nach dieser Methode bereiteten cholesterinierten Rinderherzextrakte haben sich ganz besonders bewährt. Im übrigen ist es aber ziemlich gleichgültig, welchen Extrakt man verwendet, wenn nur seine Wirksamkeit durch eingehende Prüfung festgestellt ist. Die cholesterinierten Rinderherzextrakte halten sich fast unbegrenzt wenn man sie bei Zimmertemperatur gut verkorkt und vor Licht geschützt aufbewahrt. Andere Organextrakte sollen sich allmählich verändern.

Jeder Extrakt ist nur in bestimmten Dosen genügend empfindlich und zeigt auch nur in bestimmten Dosen für Syphilis charakteristische Reaktionen. Er muß vor dem Gebrauch mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt werden. Im allgemeinen wählt man eine sechsfache Verdünnung. Von großem Einfluß auf die Wirkung der Extrakte ist die Art der Verdünnung mit Kochsalzlösung. Langsam zugesetzte Kochsalzlösung gibt trübere und empfindlichere Verdünnungen als rasch zugegebene. Die bei den ersten Versuchen angewendete Art der Verdünnung muß bei allen späteren Untersuchungen beibehalten werden. Sehr gebräuchlich ist die sogenannte fraktionierte Verdünnung. Es wird zuerst ein Teil Extrakt in ein Fläschchen gegeben. Unter leichtem Schütteln läßt man dann aus einer Pipette die fünffache Kochsalzmenge in rascher Tropfenfolge zutropfen.

Die Auswertung des Extraktes wird in folgender Weise vorgenommen.

Die Gebrauchsdosis des Extraktes darf für sich allein weder hamolytisch noch hemmend (antikomplementär) wirken, sie muß mit luëtischem Serum positiv, mit Serum Gesunder und nicht luëtisch Erkrankter negativ reagieren.

1. Zur Prüfung der hamolytischen Eigenschaften werden je 0.25 cm^3 der einzelnen sechsfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Extraktproben mit 0.25 cm^3 sechsfach verdünnten

Komplements und 0.25 cm³ Kochsalzlösung gemischt. Nach einstündigem Brutschrankaufenthalt setzt man zu jedem Röhrchen 0.5 cm³ eines gleich teiligen Gemisches aus 5% Hammelblutaufschwemmung und Kochsalzlösung zu und bringt die Röhrchen wiederum in den Brutschrank. Nach einer Stunde wird das Resultat abgelesen. Einer weiteren Prüfung werden nur die Extraktproben unterzogen, deren doppelte Menge keine Hamolyse hervorgerufen hat.

2 Prüfung der antikomplementären Eigenschaften des Extraktes. Von den zu prüfenden, sechsfach mit Kochsalzlösung verdünnten Extraktproben werden je 0.25 cm³ mit 0.25 cm³ Komplement 1:10 und 0.25 cm³ Kochsalzlösung versetzt und eine Stunde in den Brutschrank gestellt. Dann werden 0.5 cm³ des hämolysierten Systems, das die im Vorversuch (s. u.) ermittelte Amboceptor dosis enthält, hinzugefügt. Nach einhalbstündigem Verweilen im Brutschrank wird das Resultat abgelesen. Nur die Proben des Extraktes, die keine Hemmung der Hamolyse hervorgerufen, werden nun

3 auf ihr Verhalten gegenüber normalen und syphilitischen Seren in der Versuchsanordnung des Hauptversuches geprüft. Brauchbar sind die Extraktproben, die mit normalen Serum Hamolyse ergeben haben aber mit syphilitischem Serum Komplementbindung zeigen.

4 Es folgt sodann die eingehende Prüfung auf spezifisches Verhalten, die im Vergleich mit bewahrten Extrakten an einer großen Reihe syphilitischer und nicht syphilitischer Sera vorgenommen wird. Unter den nicht syphilitischen Seren müssen sich Sera von Graviden, Tuberkulösen und Geschwulstkranken befinden.

Im Handel befindliche Extrakte sind einer staatlichen Prüfung nach den Vorschriften des Reichsgesundheitsrates unterzogen worden. Trotzdem empfehlen wir dringend, jeden neu bezogenen Extrakt, bevor man ihn in Gebrauch nimmt, im Vergleich mit bewahrten Extrakten zu prüfen, um sicher zu sein, daß er auch unter den speziellen Bedingungen des Laboratoriums zuverlässig arbeitet.

Ausführung der Wassermannschen Reaktion (WaR.).

Die Ausführung der WaR. zerfällt in zwei Phasen. In der ersten wird Patientenserum, Extrakt und Komplement gemischt und eine Stunde bei 37° gehalten. In dieser Zeit geht die Bindung des Komplementes vor sich. Zum Zwecke der Erkennung dieser Bindung wird nach Ablauf der ersten Phase ein hämolysiertes System, bestehend aus Amboceptor und roten Hammelblutkörperchen zugesetzt und nach nochmaliger Verbringung in den Brutschrank die Hamolyse abgelesen (zweite Phase). Da der Gehalt des Meerschweinchensera an Komplement und die Beschaffenheit der Hammelblutkörperchenaufschwemmung von Tag zu Tag wechselt, muß die Amboceptor verdünnung, die ausreicht, um in den negativen Seren auch wirklich komplette Hamolyse hervorzurufen an jedem Versuchstage durch Vorversuche neu bestimmt werden.

Vorversuche.

Durch den ersten Vorversuch (A) wird der Titer des Amboceptors festgestellt, d. h. es wird geprüft, bis zu welcher Verdünnung der

Amboceptor die roten Blutkörperchen bei Komplementgegenwart komplett zu hamolisieren vermag. Um nun sicher zu sein, daß man im Hauptversuch mit einer ausreichenden Amboceptordosis arbeitet, verwendet man in ihm als Gebrauchsdosis mindestens das vierfache Multiplum der Titerdosis. In dem zweiten Vorversuch wird sodann festgestellt, ob die so ermittelte Gebrauchsdosis unter den Bedingungen des Hauptversuches, d. h. bei Anwesenheit von Antigen und Patientenserum ausreichend ist. Denn vor allem das Antigen, unter Umständen aber auch das Patientenserum wirkt durch Komplementzerstörung hemmend auf die Hamolyse. Die durch diese sogenannte eigenhemmende Wirkung des Antigens bzw. Patientenseras verminderte Stärke des hamolytischen Systems muß durch Heraufsetzung der Amboceptordosis kompensiert werden.

Ausführung des ersten Vorversuches (s. Tabelle A) Es werden absteigende Mengen des Amboceptors mit gleichbleibenden Dosen Komplement und Hammelblutaufschwemmung vermischt.

Bei diesem Versuch werden zunächst in die Röhrchen 1 bis 13 je 0.5 cm^3 0.9%ige Kochsalzlösung eingefüllt. Dann werden 0.5 cm^3 Amboceptorverdünnung 1 : 100 zu Röhrchen 1 hinzugefügt (= Verdünnung 1 : 200) das Ganze durch etwa dreimaliges Aufziehen und Ausblasen mit der Pipette gut gemischt und davon 0.5 cm^3 in Röhrchen 3 übergefüllt (= Verdünnung 1 : 400). Hier wiederholt sich der Vorgang. Dann erhält Röhrchen 5 wiederum 0.5 cm^3 (= Verdünnung 1 : 800) und so fort bis schließlich im letzten Röhrchen 13 die Verdünnung 1 : 12 800 erreicht ist. Davon werden 0.5 cm^3 fortgetan. Als dann wird in gleicher Weise die Verdünnung des Amboceptors in der zweiten Röhrchenreihe 2 bis 12 beginnend mit 0.5 cm^3 einer Verdünnung des Amboceptors 1 : 150 vorgenommen. In jedem der 13 Röhrchen sind nun 0.5 cm^3 Flüssigkeit enthalten die jetzt mit je 1.0 cm^3 0.9%iger Kochsalzlösung aufgefüllt werden um das gleiche Mengenverhältnis wie im späteren Hauptversuch bei dem noch Extrakt und Serum hinzukommen herzustellen. In Röhrchen 14 (Komplementkontrolle) kommen 1.5 cm^3 0.9%ige Kochsalzlösung und in Röhrchen 15 (Blut Kochsalz Kontrolle) 2.0 cm^3 0.9%ige Kochsalzlösung. Zum Schluß fügt man zu Röhrchen 1 bis 14 je 0.5 cm^3 der 10%igen Komplementverdünnung und zu allen Röhrchen je 0.5 cm^3 der 5%igen

A. Bestimmung der völlig löslichen Amboceptor Decks (Beispiele).

Röhrchen	Verdünnung (1. zur Lösung)	Hämolytischer Amboceptor			Kochsalz Lösung (2. zur Ausfällung)	Komplement Menschendes (1:10)	Hämoglobin Auf Schwemmung
		1	2	3			
1	0.5	0.5 cm ³ 1	100	verbleibe	0.5 cm ³ 1	200	0.5
2	0.5	0.5 cm ³ 1 : 150	"	"	0.5 "	1 300	0.5
3	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 1	"	"	0.5 "	1 400	0.5
4	0.5	0.5 cm ³ a. R. 2	"	"	0.5 "	1 800	0.5
5	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 3	"	"	0.5 "	1 800	0.5
6	0.5	0.5 cm ³ a. R. 4	"	"	0.5 "	1 1800	0.5
7	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 5	"	"	0.5 "	1 : 1800	0.5
8	0.5	0.5 cm ³ a. R. 6	"	"	0.5 "	1 : 2100	0.5
9	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 7	"	"	0.5 "	1 3800	0.5
10	0.5	0.5 cm ³ a. R. 8	"	"	0.5 "	1 4800	0.5
11	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 9	"	"	0.5 "	1 6400	0.5
12	0.5	0.5 cm ³ a. R. 10	"	"	0.5 "	1 9800	0.5
13	0.5	0.5 cm ³ aus Röhrchen 11	"	"	0.5 "	1 18800	0.5
14	0.5	—	—	—	—	—	0.5
15	0.5	—	—	—	—	—	0.5

Hammelblutkörperchenaufschwemmung hinzu so daß das Gesamtvolumen gleichmäßig in allen Röhrchen 25 cm^3 beträgt. Die Röhrchen werden im Brutschrank bei 37°C eine Stunde lang gehalten

Beim Ablesen wird der nach Verlauf von einer Stunde sich ergebende Endtiter festgestellt. Außerdem wird aber von der Tatsache ausgehend daß erfahrungsgemäß eine Ablesung nach 20 Minuten die für den Hauptversuch erforderliche Gebrauchsdosis schon erkennen läßt auch eine Ablesung und Protokollierung des Vorversuches nach 20 Minuten langem Verweilen im Brutschrank vorgenommen. Die so ermittelte Gebrauchsdosis muß aber mindestens das Vierfache des nach einer Stunde gefundenen Titors sein

Zugleich kann unter Verwendung der Extrakte unter Umständen auch durch Zusatz entsprechender Verdünnungen je eines bekannten positiven und negativen Vergleichsserums die eigenhemmende (anticomplementäre) Wirkung der Extraktverdünnung auf das jeweils benutzte Komplement festgestellt werden. Zu diesem Zwecke werden einerseits durch Mischen von absteigenden Mengen des Amboceptors mit gleichbleibenden Mengen der Hammelblutkörperchenaufschwemmung Aufschwemmungen sensibilisierter roter Blutkörperchen mit verschiedenem Amboceptorgehalt hereitet. Andererseits wird eine Mischung von gleichen Teilen Extraktverdünnung zehnfach verdünntem Meerschweinchenserum und 0·9%iger Kochsalzlösung hergestellt sollen bei diesem Vorversuch auch Vergleichsseren verwendet werden so sind noch entsprechende Mischungen die aus gleichen Teilen Extraktverdünnung zehnfach verdünntem Meerschweinchenserum und verdünntem positiven bzw negativem Vergleichsserum bestehen anzusetzen. Nach 45 Minuten langem Verweilen dieser Gemische bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank bei 37°C werden den Amboceptor und Hammelblutkörperchenaufschwemmung enthaltenden Versuchsröhrchen gleiche Mengen des Gemisches von Komplement und Extraktverdünnung bzw der Gemische von Komplement

B. Bestimmung der völlig löslichen Ambocceptor Devis nach vorherigem Zusammenwirken von Extrakt und Komplement (Meerschweinchen serum) unter Verwendung sensibilisierter Hammeilulinskörperchen (Mistpfl.)

Körner	K. u. L. (mit Ver- dünnung)	H m l t i b e A n b c e p t	Hammeilulins- körperchen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen	Hammeilulins- körperchen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen 4 Tropfen	Zeit in Stunden bei 37° C
1	0	0.5 cm ³ 1 100	erhalten 0 cm ³ 1 250	0.5	5
	0.5	0.5 cm ³ 1 150	- 0.5 - 1 250	0.5	
	0.5	0.5 cm ³ aus Rührchen 1	- 0.5 - 1 400	0.5	
	0.5	0.5 cm ³ a. R. 2	- 0.5 - 1 600	0.5	
	0.5	0.5 cm ³ aus Rührchen 3	- 0.5 - 1 800	0.5	
5	0.5	0.5 cm ³ a. R. 4	- 0.5 - 1 250	0.5	
	0.5	0.5 cm ³ aus Rührchen 5	- 0.5 - 1 1000	0.5	
8	0.5	0.5 cm ³ a. R. 6	- 0.5 - 1 2500	0.5	
9	0.5	0.5 cm ³ aus Rührchen 7	- 0.5 - 1 3500	0.5	
10	0.5	0.5 cm ³ a. R. 8	- 0.5 - 1 4500	0.5	

Den sensibilisierten Hammeilulinskörperchen (Rührchen 1 bis 10) werden je 1 cm³ eines Mischung von gleichen Teilen Extraktverdünnung, 19.9 gtr Kochsalzlösung und sechsfach verdünntem Meerschweinchen serum bzw. einer Mischung von gleichen Teilen Extraktverdünnung, verdünntem Meerschweinchen serum und sechsfach verdünntem Meerschweinchen serum, die zur Vergleichbarkeit des viertel Stunden im Brüterbrink bei 37° C gehalten worden sind, zugefügt.

Extrakt und Vergleichsserumverdünnung zugefügt so daß die unter diesen Bedingungen völlig lösende Dosis des Amboceptors ermittelt wird

Es empfiehlt sich nicht die komplementhaltigen Gemische zum Zwecke der Bindung in ein Wasserbad von 37°C einzustellen. Dagegen kann nach Zusatz des hämolytischen Systems (Hammelblutkörperchen und hämolytisches Antiserum) an Stelle des Brutschrankes ein Wasserbad von 37°C verwendet werden.

Aus dem Vorversuch B ergibt sich die völlig lösende Amboceptordosis bei vorheriger Einwirkung des Extraktes bzw. des Extraktes und eines positiven oder negativen Vergleichsserums auf das Komplement. Sie kann durch die antikomplementäre Extraktwirkung größer sein als bei der einfachen Bestimmung des Amboceptoriters. Es muß daher einerseits mindestens die im Vorversuch B völlig lösende Amboceptormenge andererseits mindestens das Vierfache der im Vorversuch A ermittelten Titerdosis für den Hauptversuch angewandt werden.

Enthält z. B. im Vorversuch A Röhrchen 7 die kleinste völlig lösende Dosis im Vorversuch B Röhrchen 3 so ergibt sich als Gebrauchsdosis 0.5 cm^3 der 400fachen Amboceptorverdünnung.

Enthält aber z. B. im Vorversuch A Röhrchen 7 die völlig lösende Dosis im Vorversuch B aber Röhrchen 1 so ergibt sich als Gebrauchsdosis für den Hauptversuch 0.5 cm^3 einer Amboceptorverdünnung 1 : 200.

Enthält endlich z. B. im Vorversuch A Röhrchen 7 die völlig lösende Dosis im Vorversuch B aber Röhrchen 6 so ergibt sich als Gebrauchsdosis 0.5 cm^3 der Amboceptorverdünnung 1 : 400.

Wird der Vorversuch B nicht ausgeführt so ist mindestens das Vierfache der im Vorversuch A ermittelten Titerdosis für den Hauptversuch anzuwenden.

Als Sicherung dafür daß im Hauptversuch einerseits eine hinreichende Komplementmenge vorhanden ist

D. Auswertung des Complementis (Beispiel)

Reihen	Komplement (Veerrachwunderserum)	Kochsalz- lösung cm ³	Anticoagor (Gebrauchsdosis) cm ³	Hammodellblut körperchen aufschwemmung cm ³
1	2	3	4	5
1	0.5 cm ³ Verdünnung 1:10 (= 10%)	1.0	0.3	0.5
2	0.4 " " 1:10 (= 8%)	1.1	0.5	0.5
3	0.3 " " 1:10 (= 8%)	1.2	0.5	0.5
4	0.25 " " 1:10 (= 5%)	1.3	0.6	0.5
5	0.15 " " 1:10 (= 3%)	1.35	0.5	0.5
6	0.1 " " 1:10 (= 2%)	1.1	0.5	0.5

In den Vorversuchen A und B kann das Volumen der einzelnen Komponenten auf die Hälfte herabgesetzt werden. In den meisten Laboratorien wird mit dieser Menge gearbeitet.

andererseits ein Komplementüberschuß vermieden wird kann unter Verwendung der durch die Vorversuche ermittelten Gebrauchsdosis des Amboceptors der Grad der Komplementwirkung in einem Vorversuch C quantitativ ausgewertet werden

Die Versuchsanordnung läßt sich aus dem in der vorstehenden Tabelle C aufgeführten Beispiel einer solchen Komplementauswertung ansehen. Geht z. B. aus dem Versuche hervor daß das Meerschweinchen sehr komplementarm war und ist im Hauptversuch eine auffallende Menge von partiellen Hemmungen vorhanden so mahnt dies zur Vorsicht in der Beurteilung positiver Fälle bzw. zur Neuanstellung des Versuches mit anderem Komplement.

Hauptversuch.

Jedes Patientenserum soll mit mindestens zwei verschiedenen Extrakten untersucht werden von denen einer staatlich geprüft sein muß. Die Extraktverdünnungen werden nach den für die jeweils benutzten Extrakte geltenden Vorschriften unmittelbar vor dem Gebrauch bereitet, ebenso auch die Komplement- und Amboceptorverdünnungen. Die Patientensera müssen durch halbstündiges Erwärmen im Wasserbad bei 56° inaktiviert sein.

Alle im Versuch benutzten Reagenzien werden im gleichen Volumen angewandt. Nach den ursprünglichen Angaben *Wassermanns* betrug das Gesamtvolumen 5 cm³. Man hat inzwischen gesehen daß man ebenso gut mit dem vierten Teil also 1,25 cm³ als Gesamtvolumen auskommt wobei jede einzelne der fünf Komponenten (Patientenserum, Antigen, Komplement, Amboceptorverdünnung und Hammelblut) im Volumen von 0,25 cm³ teilnimmt. Dieses Arbeiten mit Vierteldosen ist fast allgemein im Gebrauch. In Fällen in denen nur geringe Mengen Patientenserum zur Verfügung stehen kann man das Volumen der einzelnen Komponenten sogar auf 0,1 cm³ herabsetzen muß dann aber zur Abmessung Mikropipetten verwenden.

Die Reaktion die das Patientenserum mit dem Extrakt bei Komplementgegenwart eingeht und deren Einfluß auf die Hämolyse muß durch Kontrollen gesichert werden.

Es muß durch Vergleichsuntersuchungen festgestellt werden

- | | |
|---|---|
| a) daß das verwendete hämolytische System durch alleinigen Zusatz der Extrakte in seiner Wirksamkeit nicht beeinflusst wird | } Extrakt kontrollen (Röhrchen 1 und 2) |
| b) daß ein aus früheren Versuchen als sicher negativ bekanntes Menschen serum bei richtiger Versuchsanordnung keine Hemmung der Hämolyse bewirkt | |
| c) daß aber durch ein aus früheren Versuchen als sicher positiv bekanntes Menschenserum Hemmung der Hämolyse hervorgerufen wird | } Negatives Vergleichs-serum (Röhrchen 3 und 4) |
| d) daß ohne Zusatz der Extrakte die zu untersuchenden Flüssigkeiten in der Menge von 0,5 cm ³ der Verdünnung 1:6 das hämolytische System in seiner Wirksamkeit nicht beeinträchtigen | |
| | } Positives Vergleichs-serum (Röhrchen 5 und 6) |
| | |
| | } Serumkontrollen (Röhrchen 13 bis 17) |
| | |

Um eine gute Übersicht zu haben empfiehlt es sich in den Reagensglasgestellen die einzelnen mit den entsprechenden Nummern versehenen Röhrchen so aufzustellen daß alle das gleiche Serum enthaltenden Röhrchen hintereinander alle den gleichen Extrakt enthaltenden Röhrchen nebeneinander stehen

Die Ausführung des Hauptversuches mit Serumproben gestaltet sich demnach z. B. bei der Untersuchung von drei Krankenserum unter Verwendung von zwei Extrakten und der Komplementverdünnung 1:10 folgendermaßen

Robchen	Menschenserum (1 c)	Extrakte (A B) Gebrauchsdosis	Komplement (Mast serum 1 10)	Kochsalz lösung	Amboceptor (Gebrauchsdosis)	Hammeldrat Körperchen- aufschwemmung
1	2	3	1	3	6	7
1	—	A 0·25 B 0·25	0·25 0·25	0·25 0·25	0·25 0·25	0·25 0·25 Extrakt kontrollen
2	—	—	—	—	—	0·25 0·25 Negative Kontrolle
3	Negat Vergleichenserum 0·25 cm ³	A 0·25 B 0·25	0·25 0·25	—	0·25 0·25	0·25 0·25 Positive Kontrolle
4	" 0·25 "	—	—	—	—	—
5	" 0·25 "	—	—	—	—	—
6	" 0·25 "	—	—	—	—	—
7	Krankenserum I 0·25 cm ³	A 0·25 B 0·25	0·25 0·25	—	0·25 0·25	0·25 0·25 Versuchs- röhrchen
8	I 0·25 "	—	—	—	—	—
9	II 0·25 "	A 0·25 B 0·25	0·25 0·25	—	0·25 0·25	0·25 0·25 Serum- kontrollen
10	II 0·25 "	—	—	—	—	—
11	III 0·25 "	A 0·25 B 0·25	0·25 0·25	—	0·25 0·25	0·25 0·25
12	III 0·25 "	—	—	—	—	—
13	Negat Vergleichenserum 0·3 cm ³	—	0·25	—	0·25	0·25
14	Posit " 0·5	—	0·25	—	0·25	0·25
15	Krankenserum I 0·5 cm ³	—	0·25	—	0·25	0·25
16	" II 0·5 "	—	0·25	—	0·25	0·25
17	" III 0·5 "	—	0·25	—	0·25	0·25

Die Verdünnung der Sera wird in dem Röhrchen für die Serumkontrolle vorgenommen. Man braucht für jedes Antigen 0.2 cm^3 Kochsalzlösung und 0.05 cm^3 Serum dazu für jede Serumkontrolle 0.4 cm^3 Kochsalzlösung und 0.1 cm^3 Serum. Wenn man z. B. die WaR. unter Anwendung von zwei Extrakten anstellt so braucht man insgesamt 0.8 cm^3 Kochsalzlösung und 0.2 cm^3 Patientenserum. Aus dem Verdünnungsröhrchen verteilt man nach gutem Durchmischen der Flüssigkeit die Serumverdünnungen durch Hinüberpipettieren in die Versuchsröhrchen so daß je 0.25 cm^3 in die Reihen mit Extrakten kommen und 0.5 cm^3 in der Serumkontrolle zurückbleiben. Sodann werden Extrakte (je 0.25 cm^3) und zuletzt die Komplement verdünnungen (je 0.25 cm^3) eingefüllt der Röhrcheninhalt durch Schütteln gemischt und der ganze Versuch für eine Stunde in den Brutschrank von 37° gebracht.

Hauptversuch mit Lumbalflüssigkeit.

In alle Röhrchen kommen 0.25 cm^3 Komplement 1:10

Röhrchen	Lumbal flüssigkeit (unverdünnt)	Kochsalz- lösung	Extrakt (Gebrauchs- dos)
1	0.25	—	0.25
2	0.1	0.05	0.25
3	0.15	0.1	0.25
4	0.1	0.15	0.25
5	0.05	0.2	0.25
6	—	0.25	0.25
7	0.5	—	—
8	0.5	0.2	—

Nach einer Stunde Brutschrankaufenthalt kommt in alle Röhrchen 0.5 cm^3 einer Mischung aus gleichen Teilen Hammelblutsuspension und Amboceptorverdünnung wie sie aus den Vorversuchen ermittelt ist.

Nach Ablauf dieser Zeit wird das hämolytische System zugesetzt. Man mischt zu seiner Herstellung gleiche Teile der aus den Vorversuchen ermittelten Amboceptor verdünnung und der 5%igen Hammelblutaufschwemmung.

und gibt in jedes Versuchsröhrchen 0.5 cm^3 dieses Gemisches das man vor dem Gebrauch 20 bis 30 Minuten im Brutschrank stehen lassen kann. Mit derart sensibilisierten Hammelblutkörperchen geht die Hämolyse etwas rascher vonstatten.

Die Ablesung erfolgt sobald die Kontrollen die lösen müssen — also alle bis auf die positive Kontrolle — komplette Hämolyse zeigen. Bleiben einzelne Serumkontrollen ungelöst und geben also die betreffenden Patientensera Tigenhemmung so ist die Ablesung des gesamten Versuches dennoch vorzunehmen.

Die Notierung der Hämolysegrade in den verschiedenen Röhrchen erfolgt in folgender Weise

- + + + + bedeutet Blutkörperchen ungelöst, darüberstehende Flüssigkeit farblos
- + + + bedeutet Blutkörperchen fast ungelöst darüberstehende Flüssigkeit schwach rosa gefärbt.
- + + bedeutet zu etwa der Hälfte gelöst: sogenannte „Große Kuppe“
- + bedeutet zu drei Vierteln gelöst sogenannte „Kleine Kuppe“
- ⊥ bedeutet mehr als drei Viertel der Blutkörperchen gelöst sogenannter „Schleier“
- bedeutet völlig gelöst klare lackfarbene Flüssigkeit.

Für die Anstellung der WaR. mit Lumbalflüssigkeiten ist zu berücksichtigen daß der Liquor die Reagine in geringerer Menge als das Serum enthält. Er wird deshalb auch in größeren Dosen geprüft. Man wertet seine Reaktionsfähigkeit im allgemeinen mit absteigenden Mengen aus 0.25 0.2 0.15 0.1 0.05 cm^3 konzentrierten nichtinaktivierten Liquors (auf das Volumen 0.25 cm^3 mit Kochsalzlösung aufgefüllt). Es wird mit zehnfach verdünntem Komplement untersucht. Bei der Benutzung von zwei Extrakten genügt es die Rückenmarksflüssigkeit mit dem zweiten Extrakt nur in der Menge von 0.25 cm^3 zu prüfen. Im einzelnen geht die Versuchsanordnung aus der Tabelle (S. 427) hervor.

Der Ausfall der Reaktion läßt sich nur bei einwandfreien Ergebnissen in sämtlichen Kontrollen eindeutig beurteilen. Diejenigen Röhrchen, welche die doppelte Menge der Untersuchungslösung (ohne Extrakt) und die einfache Extraktmenge (ohne Serum) sowie das negative Vergleichsserum enthalten, müssen völlige Auflösung der Blutkörperchen aufweisen. Diejenigen Röhrchen welche das positive

Vergleichsserum und Extrakt enthalten, müssen ausgesprochene Hemmung (++++) oder +++ aufweisen.

Der Ausfall der Reaktion darf dem Einsender dann als „positiv“ (+) mitgeteilt werden, wenn in den mit Serum und den beiden Extrakten beschickten Röhrchen (7 bis 12) eine vollständige (++++) oder nahezu vollständige Hemmung der Hämolyse (+++) bei einwandfreien Kontrollen zu verzeichnen ist. Andererseits ist der Ausfall der Reaktion als „negativ“ („-“) dann zu bezeichnen, wenn in den mit Serum und den beiden Extrakten beschickten Röhrchen (7 bis 12) eine völlige Auflösung der Hammeiblotkörperchen bei einwandfreien Kontrollen erfolgt ist. Als „zweifelhaft“ („±“) ist der Ausfall der Reaktion im allgemeinen zu bezeichnen, wenn das zu untersuchende Serum nur mit einem Extrakt eine vollständige (++++) nahezu vollständige (+++) oder auch geringere Hemmung (++) der Hämolyse bei einwandfreien Kontrollen bewirkt, während in den mit dem Serum und dem anderen Extrakt beschickten Röhrchen Hämolyse (±, -) eingetreten ist, oder wenn das zu untersuchende Serum mit beiden Extrakten eine geringe Hemmung der Hämolyse (++) bewirkt. Ergibt sich aus der Anamnese (früher festgestellte Leuz, so ist das Ergebnis nach der positiven Seite zu deuten.

Werden zur Wassermannschen Reaktion mehr als zwei Extrakte verwendet, so ist das Serum als „positiv“ zu bezeichnen, wenn bei der Mehrzahl der verwendeten Extrakte völlige oder fast völlige Hemmung der Hämolyse festzustellen war (++++ oder +++). Sinegemaß ist ebenso bei der Beurteilung „zweifelhaft“ zu verfahren.

Solern bei positivem Ausfall die Stärke der Reaktion noch genauer bezeichnet werden soll, kann dies durch besonderen Zusatz, wie z. B. „stark positiv“ oder „schwach positiv“ erfolgen.

Ist in den Serumkontrollen nicht völlige Hämolyse eingetreten, so kommen folgende Möglichkeiten in Betracht:

a) In den Hauptversuchsröhrchen (Extrakt + Untersuchungsblutigkeit enthaltend) ist die Lösung der roten Blutkörperchen vollständig oder mindestens ebenso stark wie in den Kontrollen eingetreten; das Ergebnis ist dann als negativ zu bezeichnen.

b) In den Hauptversuchsröhrchen ist vollständige Hemmung der Hämolyse oder stärkere Hemmung als in den Kontrollen eingetreten; Das Ergebnis ist dann offenzulassen. In diesen verhältnismäßig seltenen Fällen kann durch Wiederholung der Versuche mit absteigenden Serum mengen unter Umständen noch ein eindruckliches positives Ergebnis erhalten werden. Wird dabei ein positiver Reaktionsausfall nicht erhalten, so ist der Einsender zu benachrichtigen, daß infolge der eigenhemmenden Eigenschaften des Serums ein Ergebnis nicht mitgeteilt werden kann und daß eine erneute Einsendung des Serums angezeigt ist.

Bei dem Ergebnis „zweifelhaft“ empfiehlt es sich, die Einsendung einer neuen Blutprobe nach etwa 14 Tagen zu veranlassen. War das Ergebnis zweifelhaft oder hatte das Serum Eigenhemmung gezeigt, soll die Blutentnahme möglichst erfolgen, bevor die zu untersuchende Person eine Mahlzeit eingenommen hat.

Beurteilung der mit Lumbalflüssigkeit angestellten Wassermannreaktion.

Der Befund ist als positiv zu bezeichnen, wenn bei einem Extrakte vollständige Hemmung der Hämolyse eingetreten ist. Es genügt

hierbei, wenn das in denjenigen Röhrchen, die die größte Menge Lumbalflüssigkeit enthalten der Fall ist. Die Versuchsreihen müssen regelmäßig verlaufen, d. h. der Hemmungsgrad muß mit absteigender Menge der Lumbalflüssigkeit (Röhrchen 1 bis 5) gleichbleiben oder abnehmen.

Ist die Hemmung der Hamolyse nur partiell, aber auch in den nur die geringeren Lumbalflüssigkeitsmengen enthaltenden Röhrchen vorhanden, so ist das Ergebnis im allgemeinen als zweifelhaft und nur bei hinreichenden anamnestischen Angaben bzw. bei gleichzeitig positivem Ausfall der WaR. mit Blutserum desselben Kranken als positiv zu bezeichnen. Ist nur bei Verwendung der größten Lumbalflüssigkeitsmengen partielle Hemmung der Hamolyse eingetreten, so ist die Lumbalflüssigkeit als negativ bzw. unter Umständen (klinisch-anamnestische Angaben) als zweifelhaft zu bezeichnen.

Sollen zum Zwecke der klinischen Differentialdiagnostik (sogenannte Auswertungsmethode) die geringsten Mengen der Lumbalflüssigkeit, die noch positiv reagiert haben bzw. die größten Mengen mit negativer Reaktion bezeichnet werden, so sind die sich aus der auf S. 427 angeführten Tabelle ergebenden Zahlenwerte bei der Angabe zu vervielfachen (also 1·0—0·8—0·6—0·4—0·2 cm³).

Blutbeimengungen zum Liquor machen ihn für die Syphilisdiagnose insofern unbrauchbar, als in diesem Falle eine etwaige positive Reaktion bei gleichzeitiger positiver Serumreaktion nicht auf das Vorhandensein von Antikörpern in der Lumbalflüssigkeit zu schließen erlaubt. Bei hohem Blutgehalt muß der Liquor inaktiviert und wie Serum untersucht werden.

* * *

Zum Zwecke der Vereinfachung und Verschärfung der WaR. sind eine Reihe von Modifikationen vorgeschlagen worden, die sich jedoch in der Praxis nicht bewährt haben, da durch die Vereinfachung die Genauigkeit der Resultate, durch die Verschärfung die Spezifität leidet. Dieser letztere Einwand ist besonders gegen diejenigen Methoden zu erheben, die das aktive nicht erhitzte Patientenserum verwenden und so die Benutzung des Meerschweinchenkomplementes umgehen (*Margaret Stern*). Bei der *Sternschen* Modifikation der WaR. werden von dem Antigen zwei Fünftel und ein Fünftel der bei der Originalmethode wirksamen Dosis, von dem Amboceptor die neun bis zwölfwache Titerdosis, von den Blutkörperchen eine 25%ige Aufschwemmung verwendet. Eine weitere Vereinfachung erstreben die Methoden von *Hecht, Bauer* usw., indem sie den Amboceptor vom Kaninchen durch den hammelhamolytischen Normalamboceptor des Menschenserums zu ersetzen suchen. Bei der Methode der „Kaltbindung“ von *Jacobsthal* verläuft die erste Phase der Reaktion (Antigen-Antikörper-Bindung) bei niedriger Temperatur (0° und weniger). Es reagieren dabei noch manche Sera positiv, die bei der gewöhnlichen Warmbindung nicht erfaßt werden. Wegen der bei diesen Methoden vorkommenden Unspezifitäten ist der positive Ausfall nicht verwertbar, wenn die WaR. der Originalmethode mit inaktiviertem Patientenserum ein negatives Resultat gibt. Größere Bedeutung kommt wegen der Empfindlichkeit dieser Modifikationen ihrem negativen Ausfall zu. Unzweckmäßig erscheinen uns wegen der subtilen Technik die sogenannten *Mikromethoden*, bei welchen die Reagenzien in Tropfenform angewandt werden.

Flockungs- und Trübungsreaktionen

Von den zahlreichen angegebenen Methoden haben wir nur solche ausgewählt, in deren Handhabung wir größere eigene Erfahrung besitzen, möchten aber damit kein Werturteil über die hier nicht angeführten abgeben.

a) Citocholreaktion (nach Sachs und Wittelsky)

Bei der Citocholreaktion kommen cholesterinierte Rinderherz-extrakte zur Verwendung, die durch Konzentrierung der Extraktlipide und besonderen Verdünnungsmodus für eine Schnellreaktion geeignet gemacht werden. Die Extrakte sind von der Hirschapotheke Frankfurt a. M., zu beziehen. Die Citocholreaktion kann mit Blutserum und mit Liqueur angestellt werden. Es sind für den Liqueur besondere Extrakte erforderlich. Als Reagenzgläser dienen am besten solche, wie zur Kahnreaktion (s. u.).

Citocholreaktion mit Serum Die Extraktverdünnung wird so bereitet, daß zu einem Teil Extrakt 2 Teile 3%ige Kochsalzlösung zugeblasen werden. Nach 5 Minuten langem Stehen bei Zimmertemperatur werden weitere 9 Teile 3%ige Kochsalzlösung rasch zugegeben. Sodann werden 0.1 cm^3 eine halbe Stunde bei 55° inaktivierten Patientenserums und 0.1 cm^3 der Extraktverdünnung gemischt. In der Serumkontrolle wird der Extrakt durch Kochsalzlösung ersetzt. Die Serum-Extrakt-Gemische werden entweder 1 Minute lang im Schüttelapparat geschüttelt oder aber nach 10 Sekunden langem kräftigem Schütteln mit der Hand 2 bis 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen und sodann noch einmal 10 Sekunden lang geschüttelt. In beiden Fällen wird nach Zugabe von 0.5 cm^3 0.9%iger Kochsalzlösung sogleich abgelesen. Die Ablesung erfolgt wie bei einer Bakterienagglutination mit bloßem Auge oder mit einer schwachen Lupe. Die Serumkontrolle darf keine Flocken zeigen.

Citocholreaktion mit Liqueur Die besonderen Liqueurextrakte werden zu gleichen Teilen rasch mit 0.9%iger Kochsalzlösung verdünnt und bleiben eine Minute bei Zimmertemperatur stehen. Zu je 0.25 cm^3 eine halbe Stunde bei 55° inaktivierten Liqueurs werden in 3 Röhrchen 0.05, 0.025 und 0.0125 cm^3 Extraktverdün-

1 Klärungsprobe.

Die Versuchsröhrchen bleiben 16 bis 20 Stunden (nicht länger) bei Zimmertemperatur von 20° C vor kaltem Luftzug geschützt stehen. Negative Sera zeigen homogene milchige Trübung. Bei positiven Reaktionen ist die Flüssigkeit ausgeflockt und es ist infolgedessen in einem oder in beiden Röhrchen eine mehr oder weniger vollkommene Klärung und Durchsichtigkeit der Flüssigkeit eingetreten. Bei schwach positiven Reaktionen zeigt das erste Versuchsröhrchen unvollkommene Klärung, das zweite gar keine. Bei mittelstark positiven ist nur das erste Röhrchen völlig geklärt. In stark positiven Fällen zeigen beide Röhrchen vollständige Klärung. Bei überstark positiven Reaktionen ist nur das zweite Röhrchen mehr oder weniger vollkommen geklärt.

Anmerkung. Zur Unterscheidung von zeretzten negativen Seren, die gelegentlich das gleiche Reaktionsbild wie überstark positive Sera geben können, setzt man einen Verdünnungsversuch mit einem bekannten negativen Serum an. Man gibt von dem zu untersuchenden Serum 0.01 cm³, 0.05 cm³ bzw. 0.01 cm³ in M. K. R. Röhrchen und füllt mit 0.19 cm³, 0.15 cm³ bzw. 0.16 cm³ des negativen Serum jeweils auf 0.2 cm³ auf. Mit diesen Serumverdünnungen setzt man dann eine übliche M. K. R. II an. Überstark positive Sera reagieren immer in einem oder in allen der Verdünnungsgrade positiv, zeretzte negative Sera nie. Sinngemäß dient der Verdünnungsversuch auch bei den anderen Formen der M. K. R. II zur Unterscheidung von überstark positiven und zeretzten negativen Seren.

2 Makroskopische Schnellreaktion

Die Versuche bleiben nach dem Ansetzen eineinhalb Stunden bei Zimmertemperatur stehen und werden dann wie eine Agglutinationsprobe abgelesen.

Stark positive Sera zeigen in beiden Versuchsreihen starke Flockung, überstark positive Sera nur in der zweiten Serie. Mittelstark positive Sera sind in der ersten Serie stark in der zweiten schwach oder gar nicht ausgeflockt. Bei schwach positiven Sera ist nur die erste Serie in feinen Flocken ausgeflockt. Bei negativen Reaktionen ist in keiner Serie eine Flockung eingetreten.

3 Mikroskopische Schnellreaktion

Diese gibt infolge der mikroskopischen Ablesung etwas schärfere Resultate als die Lupenablesung der makroskopischen Flockungsreaktion. Unmittelbar nach dem Ansetzen der Versuche entnimmt man mit kleinen nicht graduierten Pipetten aus den Versuchsröhrchen je einen Tropfen der Reaktionsflüssigkeit und bringt die Tropfen auf Objektträger. Wenn man diese vorher mit Tinte in zehn gleich große Fächer eingeteilt hatte, kann man zehn verschiedene Reaktionstropfen auf einem Objektträger vereinen. Die Tropfenpräparate kommen sofort für eine Stunde in eine feuchte Kammer (ungefähr 20° C) und werden dann unter dem Mikroskop mit schwacher Vergrößerung (zirka 60fach) angesehen.

Bei negativen Reaktionen sieht das Gesichtsfeld in beiden Serien gleichmäßig gekörnt aus, in der zweiten Serie sind die einzelnen Körner viel kleiner als in der ersten und stehen an der Grenze der Sichtbarkeit. Positive Reaktionen zeigen in einer oder in beiden Serien mehr oder weniger starke Flockenbildung. Für die quantitative Bewertung des Reaktionsausfalles gelten im übrigen die bei der makroskopischen Flockungsreaktion gegebenen Anweisungen.

Stehen nur ganz kleine Serummengen zur Verfügung, so mischt man Serum und Extraktverdünnung nicht in Reagensröhrchen, sondern mit Hilfe geeichter Platiniumböden, die von der Adler Apotheke bezogen werden können.

4 Zentrifugiermethode (Sofortreaktion)

Für diese genügt eine einzige Versuchsserie, nämlich die Hauptserie mit 0,2 cm³ Serum, weil durch das Zentrifugieren die Hemmungszonen der überstark positiven Sera immer überwunden werden. Un-

mittelbar nach dem Ansetzen der Versuche zentrifugiert man die Röhrchen fünf bis zehn Minuten lang bei 1500 bis 2000 Umdrehungen. Dabei klärt sich in allen Röhrchen die Flüssigkeit mehr oder weniger auf und scheidet ein blaues flaches knopfförmiges Sediment ab. An einer Reihe bekannter insbesondere auch labiler negativer Sera muß man bei der im Laboratorium zur Verfügung stehenden Zentrifuge die optimale Zeit und Umdrehungszahl für die Reaktion vorher feststellen, da je nach der Größe der Zentrifuge der Anlaufs- und Auslaufzeit die optimalen Werte verschieden sind.

Nach dem Zentrifugieren wird die überstehende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und die Röhrchen werden mit dem Boden nach oben in Reagensglasgestelle gestellt. 15 bis 30 Minuten nach dem Umdrehen der Röhrchen werden die Reaktionen mit bloßem Auge abgelesen. Bei negativen Seren ist das Sediment in langen weißlich bläulichen Streifen ausgelaufen. Bei stark positiven Fällen ist es als scharf umschriebener blauer Knopf unverändert geblieben. Schwach positive Reaktionen zeichnen sich dadurch aus, daß das Sediment sich deutlich verbreitert hat und manchmal auch zum Teil als ein ganz feiner kaum sichtbarer Hauch am Röhrchen heruntergelaufen ist.

5 Kombinationen der verschiedenen Formen der M. K. R. II

Will man ein vielfach quantitativ abgestuftes und sich gegenseitig ergänzen des Reaktionsbild erzielen, so kombiniert man alle oder einige der verschiedenen Ablesungsformen. Man entnimmt z. B. unmittelbar nach dem Ansetzen der Versuche die Tropfen für die Mikroreaktion und läßt die Röhren dann über Nacht für die Klärungsablesung stehen. Oder man zentrifugiert die Röhrchen nach der Entnahme

der Mikrotropfen Will man auf die mikroskopischen Präparate verzichten, so liest man eineinhalb Stunden nach dem Ansetzen der Versuche die makroskopische Flockungsreaktion ab und läßt die Röhrchen bis zum anderen Tage zur Klärungsreaktion stehen usw

Untersuchung von Lumbalpunktionen auf Syphilis.

Man verwendet die gleiche ohne Soda bereitete nachgereifte Extraktverdünnung wie für die Hauptserie der Serumversuche. Im ersten Versuchsröhrchen gibt man zu 0.5 cm³ Liquor 0.1 cm³ Extraktverdünnung im zweiten zu 0.2 cm³ ebenfalls 0.1 cm³ und im dritten zu 0.1 cm³ Liquor 0.2 cm³ der Extraktverdünnung. Nach dem Einpipettieren werden die Versuchsgestelle gut durchgeschüttelt und bleiben wie es bei der Klärungsprobe beschrieben ist über Nacht stehen und zwar auf Reagentenglasgestellen mit durchlöcherter Boden damit man am anderen Tage die gebildeten Sedimente von unten her beobachten kann.

Zum Ablesen der Reaktion hebt man die Versuchsgestelle etwas über Augenhöhe und neigt sie leicht nach vorn so daß die Öffnungen der Röhrchen schräg nach oben zum Fenster hin die Knippen nach dem Untersucher zu sehen. Man stellt nach bloßem Auge fest welche Form und Farbe die Sedimente haben. Bei negativen Reaktionen sieht man in allen drei Röhrchen in der Mitte des Bodens kleine knopfförmige Sedimente die sich durch Farbe und Form scharf von der Umgebung abheben. Bei etwas längerem Schräghalten des Reagentenglasgestelles laufen die Knöpfe in einem schmalen blauen Streifen aus. Wenn die kleinen blauen zerfließlichen Knöpfe fehlen und sich dafür ein handhartiges kaum erkennbares breites weißlich bläuliches

Sediment das den ganzen Röhrchenboden bedeckt gebildet hat so ist die Reaktion als positiv zu werten. Bei schwach positiven Reaktionen fehlt nur im ersten Röhrchen der negative blaue Knopf bei mittelstark positiven in den beiden ersten Röhrchen und bei stark positiven in allen Röhrchen. Gelegentlich zur Beobachtung kommende überstark positive Reaktionen zeigen in den beiden ersten Röhrchen mehr oder weniger deutliche Knopfbildung im letzten dagegen das weißlich-blauliche den ganzen Boden bedeckende positive Sediment.

Anmerkung: Zur Unterscheidung von zersetzten negativen Liquoren, die manchmal ähnliche Bilder wie überstark positive zeigen können, verdünnt man den fraglichen Liquor zu gleichen Teilen mit einem sicher negativen aktiven Serum (0.1 cm^3 plus 0.1 cm^3) und setzt damit in der üblichen Weise eine Serum-M.K.R. II an. Überstark positive Liquoren reagieren in der Serumverdünnung immer stark positiv, zersetzte negative Liquoren dagegen negativ.

Die Tuberkulosereaktion nach Meinelcke

Es werden für die Reaktion vier Antigene verwandt: 1. ein wässriges Tuberkuloseantigen, 2. ein alkoholisches Tuberkuloseantigen, stark, 3. ein alkoholisches Tuberkuloseantigen, schwach, 4. ein alkoholisches Kontrollantigen, das identisch ist mit dem Original Standard Extrakt für die M.K.R. II.

Bereiten der Antigenverdünnungen.

Es empfiehlt sich mehrere Sera zu untersuchen, da hierbei ein großer Ersparnis an Antigenmaterial erzielt wird. Man setzt vier Serien an: in der ersten Serie arbeitet man gleichzeitig mit dem starken alkoholischen und dem wässrigen Antigen, in der zweiten nur mit dem starken alkoholischen, in der dritten mit dem schwachen alkoholischen und in der vierten mit dem Standardextrakt.

Erste Serie: Will man zehn Sera untersuchen, so pipettiert man 0.5 cm^3 des starken alkoholischen Antigens auf dem Boden eines gewöhnlichen Reagensglases, in ein

zweites Reagenzglas bringt man 0.25 cm^3 des wässrigen Antigens und füllt mit 4.75 cm^3 3.5%iger Kochsalzlösung auf 5 cm^3 schnell auf. Beide Röhrchen werden so lange im Wasserbad von 57°C erwärmt, bis der Inhalt sich auf 55 bis 56° erwärmt hat (etwa fünf Minuten Kontrolle an einem Thermometer in einem mit Wasser gefüllten Röhrchen).

Nach dem Erwärmen gießt man schnell das verdünnte wässrige Antigen in das Röhrchen mit dem alkoholischen Antigen, kippt den Inhalt sofort wieder zurück und gießt das ganze noch einmal in das Antigenröhrchen schnell um. Die frisch bereitete milchig trübe bläuliche Antigenverdunnung wird sofort zum Nachreifen noch einmal für genau zwei Minuten in das Wasserbad zurückgestellt und dann unmittelbar zu den Versuchen verwandt.

Zweite Serie Man bringt in das erste Röhrchen 0.5 cm^3 des starken alkoholischen Antigens in das zweite 5 cm^3 der 3.5%igen Kochsalzlösung. Das Erwärmen nachreifen usw. geschieht nach obigen Regeln.

Dritte Serie Anstatt des starken wird das schwache alkoholische Antigen benutzt, sonst die gleiche Vorschrift.

Vierte Serie (Kontrollserie) Mit 0.5 cm^3 Standardextrakt wird dieselbe Technik wie bei zwei und drei angewandt.

Ansetzen der Reaktionen.

Alle Sera müssen gut abzentrifugiert sein und aktiv verwandt werden. Man pipettiert die Sera zu je 0.2 cm^3 in Röhrchen, die in vier einreihige Gestelle hintereinander aufgestellt werden, so daß die vier Röhrchen von jedem Serum hintereinander stehen und in jedem Gestell eine Serie enthalten ist. Die Beschiekung der Röhrchen mit Serum soll vor der Herstellung der Antigenverdunnungen geschehen.

In die mit Serum beschickten Reagenzröhrchen gibt man je 0.5 cm^3 der vier verschiedenen Antigenver-

dünnungen so daß jedes Gestell eine Serie enthält. Das Einpipettieren soll möglichst schnell erfolgen um ein zu starkes Nachreifen der Verdünnungen zu vermeiden. Nach beendetem Pipettieren werden die Gestelle sofort gut durchgeschüttelt. Hierauf setzt man die Röhrchen auf neue Gestelle so daß die vier Röhrchen eines Serums nicht hintereinander auf verschiedenen Gestellen sondern nebeneinander auf einem Gestell stehen. Hierauf bringt man die Versuche auf 24 Stunden in einen Brutschrank von 37°. Dann wird die Reaktion zum ersten Mal abgelesen. Nach dem Ablesen schüttelt man die Gestelle gut durch und läßt sie bei Zimmertemperatur (etwa 20°) bis zum anderen Tag stehen worauf die zweite Ablesung erfolgt (nach 48 Stunden).

Das Ablesen der Reaktion geschieht genau so wie bei der Kuppenablesung M.K.R. II Liquorreaktion auf Syphilis.

Die Bewertung des Reaktionsausfalles in den einzelnen Röhrchen. Bei einer negativen Reaktion sieht man in der Mitte des Bodens ein kleines knopfförmiges dunkelblaues Sediment das sich durch Form und Farbe scharf von der Umgebung absetzt.

Bei etwas längerem Schräghalten des Reagensgestelles läuft der blane Knopf in einem schmalen Streifen aus (sehr charakteristisch)

Bei einer positiven Reaktion ist der Boden ganz oder zum Teil bedeckt mit einem gekörnten festen krumeligen weißlich bläulichen Sediment das beim Schräghalten nicht ausläuft sondern sich höchsten nach dem Gesetz der Schwere verschiebt

Ist das Sediment breit und füllt die ganze Röhrchenkuppe aus oder zwar schmaler aber ganz dick und massig, so ist die Reaktion als stark positiv zu bezeichnen (++++) Ein zartes und schmäleres Sediment daß aber den größten Teil der Kuppe bedeckt bedeutet eine mittelstarke Reaktion (+++) Bei schwachem

Ausfall der Reaktion ist die gekörnte Zone noch zarter und schmaler und hat nur einen Durchmesser von 3 bis 5 mm (+ + und +) Aus ihr hebt sich meist deutlich ein blauer zentraler Knopf ab der manchmal mehr oder weniger zerfließlich ist. Als zweifelhaft sind Reaktionen zu bezeichnen mit einer geringen ganz leicht gekörnten Zone um den mehr oder weniger zerfließlichen blauen Knopf. Die gekörnte Zone kann ganz fehlen der Knopf aber läuft beim Schräghalten nicht aus.

Bewertung der Resultate des vollständigen Versuches in allen vier Serien

a) Stark positive Resultate Die drei Hauptserien sind positiv die Kontrollserie negativ.

Bei sehr stark positiven Serien kann sich nur im dritten oder zweiten und dritten Röhrchen ein positives Sediment zeigen. Bei diesen stark positiven Serien kann eine quantitative Auswertung vorgenommen werden indem man Verdünnungen mit einem sicher negativen Serum im Verhältnis 1 : 2 1 : 4 1 : 10 und 1 : 20 herstellt. Mit diesen Verdünnungen wird eine Serie mit dem schwachen alkoholischen Tuberkuloseantigen angesetzt.

b) Mittelstark positive Reaktionen Nur die beiden ersten Serien zeigen positive Sedimente das dritte und vierte sind negativ.

c) Schwach positive Reaktionen Nur die erste Serie ist positiv die anderen negativ.

d) Zweifelhafte Reaktionen Im ersten Röhrchen ganz schwache und unendlich positive Reaktion die übrigen negativ oder überall fragliches Sediment.

e) Negative Reaktionen Alle Röhrchen deutlich negativ.

Die Blutentnahmen für die Tuberkulosereaktion werden am besten morgens vor der ersten Mahlzeit vorgenommen. Am Nachmittag setzt man eine Injektion an (M K K II) damit man am nächsten Morgen weiß ob

man im positiven Falle die Sera durch andere Dosierung oder Absättigen abschwächen muß (über die Technik vgl. die von der Adler Apotheke Hagen i. W. den Antigenen beigegebene Gebrauchsanweisung)

Ist eine schnellere Diagnosestellung unbedingt notwendig so muß man sich der Zentrifugier oder Mikrotechnik der Tuberkulosereaktion bedienen (Klin. Wochenschrift 1934 Nr. 23)

Komplementbindungsreaktion bei Gonorrhöe nach Witebsky

Das Gonokokkenantigen wird in haltbarer flüssiger Form von den Behringwerken (Marburg) abgegeben. Aufbewahrung erfolgt bei Zimmertemperatur. Zum Versuch wird eine abgemessene Menge des gut durchgeschüttelten Antigens in einer kleinen Abdampfschale auf dem Wasserbade verdampft. Der Rückstand wird mit so viel 0.9%iger Kochsalzlösung aufgenommen, daß das fünffache Volumen der verdampften Extraktmenge erzielt wird. z. B. 1 cm³ Extrakt plus 5 cm³ Kochsalzlösung. Die so erhaltene Suspension dient im Volumen von 0.25 cm³ als gebrauchsfertiges Antigen. Das inaktivierte dreifach verdünnte Serum wird in Mengen von 0.25 0.15 0.1 0.05 cm³ in Reagensgläser verteilt und der Volumenunterschied durch Zusatz von Kochsalzlösung auf 0.25 cm³ ausgeglichen. Nach Zusatz von 0.25 cm³ Antigen und 0.25 cm³ 15fach verdünntem Komplement kommen die Gemische auf eine Stunde in den Brutschrank (37°). Dann wird das hämolytische System zugesetzt. Die Amboceptorverdünnung soll dem fünffachen Multiplum der komplett lösenden Amboceptordosis entsprechen. Es sind die üblichen Kontrollen anzusetzen: die Serumkontrolle nur mit 0.25 cm³ Patientenserum.

Die Ablesung des Resultates erfolgt nach Lösung der Kontrollen und ein zweites Mal nach weiteren halb- bis einstündigem Brutschrankaufenthalt. Maßgebend ist

vor allem die erste Ablesung bei einwandfrei positiven Sera bleibt auch bei der zweiten Ablesung die vollständige Hemmung der Hämolyse erhalten. Als positiv sind nur Sera zu bewerten, die mindestens mit zwei Serumverdünnungen vollständige Hemmung der Hämolyse ergeben.

Die Reaktion ist für die Diagnose der akuten Gonorrhöe entscheidend, da sie einerseits in der Regel erst 2 Wochen nach der Infektion positiv ausfällt und andererseits in einem großen Prozentsatz der Fälle während des ganzen Krankheitsverlaufes negativ bleibt. Von praktischer Bedeutung ist die Methode für die Diagnose der Fernkomplikationen, wie Arthritiden, Myositiden, Irididen usw., bei denen sie in einem sehr großen Prozentsatz positiv ausfällt. Umstritten ist ihre Verwertbarkeit für die Feststellung der Heilung der Gonorrhöe, da sie oft noch lange Zeit nach dem Abklingen aller klinischen Erscheinungen positiv bleiben kann. Bei vakuierten Patienten wird die Reaktion stets positiv ist bei ihnen also diagnostisch nicht verwertbar.

Komplementbindungsreaktion bei Echinokokkuserkrankungen

Der Versuch kann mit einem von dem Behringwerk Marburg aus Flüssigkeit aus Echinokokkuszysten zu bereiteten Antigen in der Versuchsanordnung der Wassermannschen Reaktion angestellt werden.

Zu je 0.25 cm^3 Antigen werden 0.25 0.2 0.15 0.1 und 0.05 cm^3 bei 56° inaktivierten Patientenserums und 0.25 0.1 verdünnten Komplementes zugesetzt und mit 0.85%iger Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen gebracht. Ferner müssen eine negative positive und leere Kontrolle (Serum ohne Antigen) sowie ein Wassermann positives Serum, das hier negativ reagieren muß, angesetzt werden. Der Versuch kommt eineinviertel Stunden in den Brutschrank bei 37° , dann erfolgt der Zusatz des hämolytischen Systems bestehend aus 0.25 cm^3 5%iger Hammelblutkörperchenaufschwemmung und 0.2 cm^3 Amboceptor verdünnung in der im Vorversuch (vgl. Wassermannsche Reaktion) ermittelten Gebrauchsdosis.

Die Ablesung erfolgt, wenn die Kontrollröhrchen gelöst sind.

Der negative Ausfall der Reaktion spricht nicht gegen die Diagnose Echinokokkus.

Die Bestimmung der Blutgruppen.

Die Einteilung der Menschen in Blutgruppen beruht auf der Erscheinung der Isoagglutination, d. h. auf der Fähigkeit menschlicher Blutseren, die roten Blutkörperchen anderer Menschen agglutinieren zu können. *Landsteiner* hat gezeigt, daß sich eine einfache Ordnung der Isoagglutinationsphänomene ergibt, wenn man annimmt, daß die roten Blutkörperchen zwei verschiedene Agglutinogene (oder Receptoren) A und B besitzen oder nicht besitzen können, denen im Serum die entsprechenden Agglutinine α und β (Anti A und Anti B) gegenüberstehen. Es gilt die *Landsteiner'sche Regel*, die besagt, daß im Serum eines Menschen immer nur diejenigen Agglutinine auftreten zu denen die Receptoren in den roten Blutkörperchen fehlen.

So ergeben sich vier verschiedene Blutgruppen, deren Bezeichnung und Verhalten aus folgender Tabelle hervorgeht:

Bezeichnung *) der Blutgruppen	Blutkörperchen enthalten die Receptoren	Serum enthält die Agglutinine	Häufigkeit der Blutgruppen in der deutschen Bevölkerung in runden Zahlen
O	keine	α und β	40%
A	A	β	40%
B	B	α	15%
AB	A und B	keine	5%

Es läßt sich aus der Tabelle ablesen, daß

die Blutkörperchen der Gruppe O keine Receptoren besitzen und also von keinem Serum agglutiniert werden können, während das Serum O die Blutkörperchen aller anderen Gruppen zusammenfaßt.

Die Blutkörperchen der Gruppe A sind im Besitz des Receptors A und werden agglutiniert durch Serum O und B. Das Serum A agglutiniert Blutkörperchen B und AB.

Die Blutkörperchen der Gruppe B werden agglutiniert vom Serum O und A. Serum B agglutiniert Blutkörperchen A und AB.

Die Blutkörperchen AB werden von allen anderen Seren (also O, A und B) agglutiniert. Serum AB enthält keine Agglutinine.

Anschaulich macht diese Verhältnisse die nebenstehende Tabelle in der das Ergebnis der gegenseitigen Einwirkung von Seren und Blutkörperchen aller vier Gruppen dargestellt ist.

Die Blutgruppeneigenschaft ist ein absolut konstantes Merkmal des Individuums. Die Receptoren sind nach den *Mendelschen* Regeln als dominante Merkmale vererbbar.

*) An Stelle der hier gebrauchten Buchstabenbezeichnungen war Numerierung der Blutgruppen üblich, und zwar nach *Jansky*: Gruppe O = I, A = II, B = III, AB = IV. *Moss* nennt dagegen O = IV und AB = I. Jedoch sollten diese Nummernbezeichnungen wegen der Gefahr von Mißverständnissen nicht mehr gebraucht werden.

Praktisch wichtig ist, daß die Receptoren der Bluthörperchen sich schon im embryonalen Leben ausbilden, während die Agglutinine des Serums im allgemeinen erst am Ende des ersten Lebensjahres auftreten und auch im späteren Leben quantitativen Schwankungen unterliegen.

Blutkörperchen der Gruppe

Serum der Gruppe		O	A	B	AB
	O	—	+	+	+
	A	—	—	+	+
	B	—	+	—	+
	AB	—	—	—	—

+ = Agglutination

— = Keine Agglutination

Das Anwendungsgebiet der Blutgruppenbestimmung umfaßt klinische, forensische und anthropologische Zwecke. In der Klinik dient die Blutgruppenbestimmung vor allem der Feststellung eines geeigneten Spenders für die Bluttransfusion. Es dürfen nur solche Transfusionen vorgenommen werden, bei denen die Spenderblutkörperchen von dem Empfänger serum nicht agglutiniert werden. Zur Transfusion darf also nur Blut eines gruppengleichen Individuums benutzt werden, allenfalls Blut eines Menschen der Gruppe O. Denn die Blutkörperchen der Gruppe O sind unagglutinabel, während das Serum des O-Spenders vom Empfängerblut derart verdünnt wird, daß seine Agglutinine keinen Schaden mehr anrichten können. Gruppe O ist also Universalspender. Umgekehrt ist Gruppe AB Universalempfänger d. h. AB kann von jeder Gruppe Blut erhalten, da Serum AB frei von Agglutininen ist.

Die Zulässigkeit einer Bluttransfusion kann auch durch direkte wechselseitige Prüfung der Agglutination von Empfänger und Spenderblut festgestellt werden. Transfusion ist erlaubt, wenn keine Agglutination eintritt (dann besteht Gruppengleichheit) oder wenn nur das Empfängerblut vom Spenderserum agglutiniert wird. Transfusion ist verboten, wenn die Spenderblutkörperchen vom Empfänger serum agglutiniert werden. Diese direkte Probe empfehlen wir, wenn irgend möglich, jedesmal zur Ergänzung und Kontrolle der Blutgruppenbestimmung einzustellen.

Außer den klassischen Blutgruppenmerkmalen sind von Landsteiner und Levine drei Faktoren M, N und P gefunden worden, von denen M und N besser bekannt sind. Die Faktoren kommen unabhängig von den klassischen Blutgruppenmerkmalen derart vor, daß entweder beide (M + N +) oder einer (M + N — bzw. M — N +) vorhanden sind. Das Fehlen beider ist nicht beobachtet. Die Vererbung ist dominant, so daß die Faktorenbestimmung in der gerichtlichen Medizin Bedeutung hat.

Klinisch ist sie nicht wichtig, weil den Faktoren Agglutinine im Menschenserum nicht entsprechen. Sie bleiben daher bei der Transfusion unberücksichtigt.

Zum Nachweis von M und N dienen Immunsera von Kaninchen, die mit $M + N -$ bzw. $M - N +$ Blut vorbehandelt sind und von denen man durch geeignete Adsorption alle Agglutinine außer Anti-M bzw. Anti-N entfernt hat. Die Technik erfordert spezielle Erfahrung und Vorkehrungen. Man wird sich gegebenenfalls der bei den Behringwerken in Marburg käuflichen, gebrauchsfertigen Sera bedienen, mit denen in der unten beschriebenen Weise die Reaktion (am besten makroskopisch mit je 0.1 cm^3 Serum und 0.1 cm^3 $\frac{1}{2}$ -ages Blut) ausgeführt wird.

Ausführung der Blutgruppenbestimmung erfolgt in der Regel mit Testseren. Wie aus der Tabelle S. 145 hervorgeht, kann durch Verwendung der beiden Seren der Gruppen A und B die Gruppenzugehörigkeit eines Blutes festgestellt werden.

Keine Agglutination durch Testserum A und B: Blut gehört zu Gruppe O.

Serum B agglutiniert allein: Blut gehört zur Gruppe A.

Serum A agglutiniert allein: Blut gehört zur Gruppe B.

Beide Testseren agglutinieren: Blut gehört zur Gruppe AB.

Zur Kontrolle kann man als drittes Testserum ein Serum O heranziehen.

Testseren hält man sich auf Eis aufbewahrt, am besten steril in Ampullen eingeschmolzen vorrätig. Über ihre Haltbarkeit lassen sich keine allgemeinen Angaben machen, da unter Umständen ihr Agglutiningehalt rasch abnehmen und sogar ganz schwinden kann. Das gilt auch für die im Handel befindlichen Testseren. Deshalb soll die Wirksamkeit eines Testserums bei jeder Gruppenbestimmung an Blutkörperchen bekannter Gruppenzugehörigkeit (Testblutkörperchen) kontrolliert werden. An Stelle des menschlichen Testserums B kann man ein Immunserum verwenden, das durch Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblut gewonnen werden kann. Hammelblut enthält einen Receptor, der dem Receptor A

des Menschenblutes gleicht und kann das Agglutinin α erzeugen. Derartiges Immunsrum ist im Krebsinstitut in Heidelberg erhältlich. Es ist vorzüglich haltbar.

Man wird wenn irgend möglich bei der Blutgruppenbestimmung sich nicht mit der Feststellung der Receptoren der Blutkörperchen durch Testserum begnügen sondern den Agglutinationsgehalt des Blutserums mit Hilfe von Blutkörperchen der Gruppen A und B (Testblutkörperchen) feststellen. Werden beide Blutarten agglutiniert gehört das Serum zur Gruppe O wird Blut B allein agglutiniert Serum Gruppe A wird Blut A allein agglutiniert Serum Gruppe B keine Agglutination Serum Gruppe AB (vgl. Tabelle S. 445). Bei jungen Kindern kann aber dieses Verfahren versagen (vgl. S. 445).

Die Gewinnung der Seren erfolgt in der üblichen Weise. Bei ganz frischen Seren empfiehlt sich fünf bis zehn Minuten langes Inaktivieren bei 56° um die Möglichkeit störender Hamolyse auszuschalten.

Die Blutkörperchenaufschwemmung soll nicht zu dicht sein für die Objektträgermethode höchstens 5% für die Reagensglasmethode 2%. Die Dichte schätzt man im Vergleich zu der einer Hammelblutaufschwemmung zur War. ab bei der sie 5% beträgt. Die Aufschwemmung wird entweder durch Hineinfallen lassen von einigen Tropfen Blut (z. B. aus der Fingerbeere) in 1 bis 2 cm³ 0.85%iger Kochsalzlösung bereitet oder aus dem geronnenen Blutkuchen dadurch gewonnen daß man ihn nach Abgießen des Serums mit einigen Kubikzentimetern 0.85%iger Kochsalzlösung übergießt und umschüttelt. Man gießt die deckfarbene Flüssigkeit ab und bringt sie eventuell durch weiteren Zusatz von Kochsalzlösung auf die gewünschte Dichte.

Objektträgermethode. Ein Objektträger wird auf weißen Untergrund gelegt und auf ihn links ein Tropfen konzentrierten Testserums A rechts von Testserum B gebracht. Sodann wird jedem Serumtropfen ein

Tropfen der fraglichen Blutaufschwemmung (Dichte etwa 5%) zugesetzt. Diese kann bequem unter Anwendung einer Leukocytenpipette hergestellt werden. Aufsaugen des Blutes bis Marke 0·5 verdünnen mit 3·8%iger Natriumcitratlösung bis Marke 11. Blut und Serum werden mit Platinöse oder ähnlichem gut gemischt. Unter ständigem Schaukeln des Objektträgers beobachtet man mit bloßem Auge oder einer schwachen Lupe den Eintritt der Agglutination, die nach fünf bis zehn Minuten beendet zu sein pflegt. Sie beginnt mit einer feinen nach und nach größer werdenden Körnelung der anfangs homogenen Blutaufschwemmung. Verwertung des Ergebnisses s. S. 446. Über die Kontrollen (Verwendung eines dritten Testserums der Gruppe O, Prüfung der Brauchbarkeit der Testseren mit Testblutkörperchen, Feststellung des Agglutiningehaltes des Serums mit Testblutkörperchen) vgl. oben und S. 447.

Fehlerquellen sind 1 die sogenannte Pseudoagglutination, d. h. eine durch starke Geldrollenbildung der Blutkörperchen vorgetäuschte Agglutination. Die Pseudoagglutination löst sich zum Unterschied von der echten Agglutination bei energischem Verrühren wieder auf. Die Unterscheidung kann jedoch schwer sein. 2 Fehlen der Agglutination kann vorgetäuscht werden durch schwache Testseren. Da auf diese Weise fälschlich Gruppe O (Universalspender) diagnostiziert werden kann, ist dieser Fehler besonders gefährlich. Seine Ausschaltung erstreben die genannten Kontrollen.

Beide Fehlermöglichkeiten treten stark zurück bei Anwendung der Reagensglasmethode, die deshalb im Laboratorium die Methode der Wahl ist. Die Pseudoagglutination wird bei ihr durch die Verdünnung des Serums gehindert, falsche negative Resultate werden durch die längere Versuchsdauer leichter ausgeschaltet. Es werden in zwei Reagensgläsern je 0·2 cm³ der halbverdünnten Testseren A und B (0·1 cm³ 0·85%iger Kochsalzlösung und 0·1 cm³ Serum) gebracht und in ein drittes Röhrchen (Kochsalzkontrolle) 0·2 cm³ Kochsalzlösung so-

dann werden 0.2 cm^3 der zu prüfenden 2%igen Blutanschwemmung hinzugefügt. Nach Umschütteln werden die Röhrchen für eine Stunde in den Blutschrank bei 37° gebracht. Die Ablesung wird wie bei der Bakterienagglutination mit bloßem Auge vorgenommen (vgl. S. 398). Man kann den Versuch beschleunigen indem man die Versuchsröhrchen etwa drei bis fünf Minuten lang zentrifugiert und nach Aufschütteln sofort das Resultat abliest. Über Kontrollen vgl. bei der Objektträgermethode.

Im folgenden geben wir das Protokoll einer Blutgruppenbestimmung mit der Reagenaglasmethode das natürlich sinngemäß auch für die Objektträgermethode gilt in dem Spender und Empfänger gleichzeitig untersucht werden und in dem alle Kontrollen vorhanden sind.

0.2 cm ³ Serum 1:2	0.2 cm ³ 2% Blutüberperthinschwemmung				
	Testblutüberperthinschwemmung			Spender blut	Empfänger blut
	O	A	B		
Testserum O	—	+	+	—	+
A	—	—	+	—	—
B	—	+	—	—	+
Serum des Spenders	—	+	+	—	+
d. Empfängers	—	—	+	—	—
0.85% Kochsalzlösung	—	—	—	—	—

Der Spender gehört zur Gruppe O (Universalspender) der Empfänger zur Gruppe A.

Bestimmung der Diastase.

Es wird hierzu ausschließlich frisch gewonnenes Serum verwendet. Für klinische Zwecke ist die Methodik nach Wohlgemuth am bequemsten.

Man bringt in zehn Reagenagläser je 1.0 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung. In das erste Reagenaglas kommt alsdann 1.0 cm^3 des zu untersuchenden Serums. Nachdem das Reagenaglas geschüttelt ist entnimmt man 1.0 cm^3 und bringt ihn in das zweite Reagenaglas. Mit diesem wird

ebenso vorgegangen usw. Die aus dem neunten Reagensglas entnommene Flüssigkeit wird weggegossen. Das zehnte Reagensglas dient als Kontrolle. Jetzt bringt man in alle Reagensgläser je 20 cm^3 einer frisch hergestellten 1%igen Stärkelösung (aus Kahlbanns löslicher Stärke) numeriert die Reagensgläser und stellt auf 30 Minuten in ein Wasserbad von 38°C .

Hierauf bringt man sie zum Abkühlen in Leitungswasser. Hernach setzt man zu jedem Reagensglas zwei bis drei Tropfen einer $\frac{1}{100}$ normalen Jodlösung zu. Das Röhrchen das noch eine deutliche Rotfärbung zeigt wird als Limesröhrchen bezeichnet. Zur Berechnung des Diastasegehaltes wird das vorangehende benutzt. Ist z. B. das sechste Röhrchen als Limes bezeichnet so wird der Diastasegehalt nach dem fünften berechnet. Diesem Röhrchen entspricht eine Verdünnung des Serums 1:32. Da diese Serummenge 2 cm^3 Stärke gespalten hat so wird der Diastasegehalt $2 \times 32 = 64$ Einheiten betragen.

Das normale Serum enthält 10 bis 20 Einheiten nach Wohlgemuth.

Soll der 24stündige Versuch angewandt werden, so verdünnt man das Serum in derselben Weise fügt 5 cm^3 1%iger Stärke hinzu und versetzt alle Reagensgläser mit je fünf Tropfen Toluol. Man korkt gut zu und bringt auf 24 Stunden in den Brutschrank. Hierauf füllt man die Gläser fast bis zum Rande mit destilliertem Wasser und setzt zwei bis drei Tropfen $\frac{1}{10}$ normaler Jodlösung hinzu. Die Berechnung geschieht so daß man die entsprechende Verdünnung mit 5 multipliziert.

Bestimmung der Serumlipase.

Stalagmometrische Methode nach Rona und Michaelis

Prinzip Fette erniedrigen stark die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit. Werden Fette durch Lipase gespalten so erhöht sich die Oberflächenspannung da die Spaltungsprodukte in dieser Hinsicht ohne Wirkung sind.

Die Größe der Oberflächenspannung wird mittels der Tropf methode gemessen

Erforderliche Lösungen 1 Gesättigte Tributyrinlösung (Fettlösung) Man schüttelt zehn Tropfen Tributyrin mit einem Liter Wasser ein bis zwei Stunden nicht zu heftig im Schüttelapparat und läßt 12 bis 24 Stunden stehen den ungelösten Anteil läßt man absetzen und filtriert durch ein feuchtes Filter Die ersten Portionen des klaren Filtrats werden verworfen Der Rest wird in einen Tropftrichter gefüllt damit man unabhängig von den an der Oberfläche sich ansammelnden ungelösten Tropfen durch das Trichterrohr die Lösung entnehmen kann Die Lösung ist nur zwei Tage haltbar

2 Pufferlösung Sie besteht aus einem Gemisch von einem Teil $\frac{1}{2}$ molaren primären Phosphats und 14 Teilen $\frac{1}{2}$ molaren sekundären Phosphats Zur Herstellung des primären Phosphats versetzt man 100 cm^3 dreifach normaler Phosphorsäure mit 100 cm^3 normaler Na OH und 100 cm^3 destilliertem Wasser Das sekundäre Phosphat erhält man durch Zusatz von 200 cm^3 normaler Na OH zu 100 cm^3 dreifach normaler Phosphorsäure Das Puffergemisch (1 auf 14) hat ein pH von 7.6

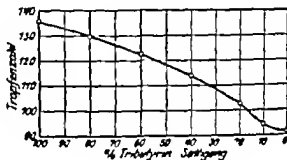
Ausführung Man eicht zunächst die Tropf pipette (s. Fig. 49) für Wasser bei 18° C Die Pipette faßt zwischen den Marken 2 cm^3 Man bestimmt genau wieviel Tropfen Wasser diesen 2 cm^3 entsprechen. Dasselbe wird auch für die gesättigte Tributyrinlösung und weiter für ihre Verdünnungen mit Wasser in Differenzen von 10 zu 10% der gesättigten Lösung festgestellt. Die so erhaltenen Tropfenwerte werden in ein Koordinatensystem eingetragen Aus der erhaltenen Kurve kann man den Tributyringehalt einer Lösung (in Prozenten der gesättigten Lösung) aus der Tropfenzahl bestimmen (Fig. 50) Beispiel Eine Tributyrinlösung hat die Tropfenzahl 120 Sie enthält also 55% der gesättigten Tributyrinlösung Zur Bestimmung der Lipase in Serum versetzt man 50 cm^3 gesättigte wässrige

Tributyrinlösung mit 2 bis 3 cm^3 Serum und 3 cm^3 des Puffergemisches man schüttelt gründlichst durch und bestimmt die Tropfenzahl sofort und nach 12 24 und 48 Minuten. Man saugt die Tropfpipette — nicht mit dem Munde — auf und zählt die abfallenden Tropfen, die beim Ausfließen der Flüssigkeit zwischen den beiden Marken der Capillare gebildet werden. Statt die Tropfen direkt zu zählen kann man sie auch auf einem mit Linoleum

Fig 49



Fig 50



bespannten Brett auffangen das man unter der Capillare langsam wegzieht

Aus der Eichkurve kann man den jeweilig noch vorhandenen Tributyringehalt ablesen. Als Einheit der Lipase für Spaltung des Tributyrins wird diejenige Menge bezeichnet die eine Abnahme der Tropfenzahl in 50 Minuten um 20 bewirkt das ist etwa die Hälfte der Differenz zwischen den Tropfenzahlen von einer Tributyrinlösung und Wasser (Butyraseeinheit)

Für diagnostische Zwecke ist von Bedeutung die Bestimmung der Giftfestigkeit der Serum lipase. Rona und seine Mitarbeiter haben nämlich fest

gestellt daß bei Erkrankungen der Leber eine chinin feste, bei Pankreasaffektionen eine atoxylfeste Lipase in Serum vorhanden ist. Zur Bestimmung der Gift festigkeit versetzt man 50 cm^3 gesättigter Tributyrinlösung mit 3 cm^3 Serum 3 cm^3 Pufferlösung und 1 cm^3 0·2%iger Lösung von Chininum muriaticum bzw dieselbe Menge 0·2%iger Atoxylösung Als Kontrolle wird eine zweite Probe mit denselben Reagenzien ohne Giftlösung angesetzt Nach kräftigem Durchschütteln bestimmt man in beiden Proben die Tropfenzahl nach 3 30 60 und 90 Minuten Enthält das Serum keine giftigste Lipase so wird die Tropfenzahl in der Chinin bzw Atoxylprobe nach 90 Minuten annähernd dieselbe sein wie nach 3 Minuten (der Unterschied darf sechs Tropfen nicht überschreiten) Bei Anwesenheit einer giftigsten Lipase wird die Differenz bedeutend größer sein

Die Takata-Ara Reaktion im Blutserum.

(Eine kolloidchemische Reaktion zur Diagnose der Leber insuffizienz.)

Prinzip Bei schwach alkalischer Reaktion scheidet sich aus einer Sublimatlösung ein Quecksilberoxydvol ab Dieses ist in statu nascendi imstande Fuchsin zu adsorbieren und es entsteht ein blauvioletter Farbton Diese Adsorptionsverbindung wird durch die Gegenwart von Körpern mit hoher Kolloidstabilität (z. B. Serum) verhindert das Reaktionsgemisch behält in diesem Falle die rote Farbe des Fuchsins Treten aber zu der Adsorptionsverbindung Quecksilber-Oxyd Fuchsin labile Kolloide hinzu so entsteht ein Niederschlag von blauvioletter Farbe während die überstehende Flüssigkeit sich entfärbt (positive Reaktion)

Methodik Mit 1·0 cm^3 Serum und mit physiologischer Kochsalzlösung wird eine Verdünnungsreihe von 1 : 1 bis 1 : 512 hergestellt In jedes Röhrchen kommen 0·25 cm^3 einer 10%igen Sodaklösung*) und 0·3 cm^3 frisch be-

*) Aus wa serfreiem chem reinen Natriumcarbonat (Kalkbrenn)

reitetes *Takala* Reagens (aus gleichen Teilen einer 0.5%igen Sublimatlösung und einer 0.02%igen wässerigen Diamant Fuchsin Lösung diese Lösungen sind getrennt unbegrenzt haltbar) Nach Umschütteln werden die Röhrchen verkorkt. Die Ablesung geschieht nach 20 bis 24 Stunden Nach *Jegler* soll eine Reaktion nur dann als positiv erklärt werden wenn eine Flockung in mindestens drei Gläsern der Reihe festgestellt wurde.

Bestimmung der Alkalireserve.

(Nach *van Slyke*)

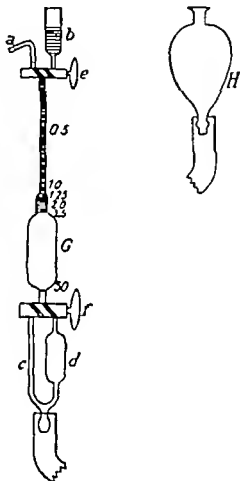
Unter Alkalireserve versteht man diejenige Menge von Basen im Plasma die zur Absättigung der Kohlensäure und anderer Säuren dient. Bei dieser Bestimmung wird durch Zusatz von Säure zu einer abgemessenen Menge Plasma das Volumen der entweichenden Kohlensäure festgestellt Da bei diesem Verfahren nicht allein die chemisch an Alkali gebundene sondern auch die von Plasma physikalisch gelöste Kohlensäure zu berücksichtigen ist so wird das Plasma zur Ausschaltung der letzteren mit einem Gasgemisch ins Gleichgewicht gebracht dessen Kohlensäuregehalt dem der Alveolarluft der Lungen entspricht

Erforderliche Reagenzien 1 1%ige CO_2 -freie Ammoniaklösung Man versetzt 1%ige Ammoniaklösung mit etwas Bariumhydrat (in Substanz) filtriert von dem ausgeschiedenen Carbonat ab Den etwaigen Überschuß an Barium fällt man mit Ammonsulfat aus. 2 10%ige Schwefelsäure. 3 Oktylalkohol sekundär I (*Kahlbaum*) oder Caprylalkohol.

Der von *van Slyke* angegebene Apparat besteht aus folgenden Teilen (Fig 51) Der Pipettenraum *G* setzt sich nach oben in einen verengten Teil und weiter in einen fast capillaren Teil fort Der Gehalt dieser Teile beträgt 50 cm^3 Der Inhalt des capillaren Teiles beträgt

1 cm^3 er ist in 50 Teile zu je 0.02 cm^3 eingeteilt so daß 0.01 cm^3 abgelesen werden kann. Das obere Ende des

Fig. 51



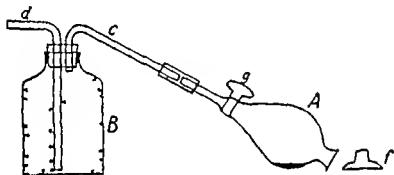
capillaren Teiles ist an einen doppelt durchbohrten Hahn angeschlossen. Je nach der Einstellung kann der Hahn in Verbindung mit dem nach außen führenden Röhrchen a

oder mit dem Aufsatz *b* gebracht werden. Der untere Teil des Pipettenraumes *G* ist auch an einen doppelt durchbohrten Hahn (*f*) angeschlossen, der ihn entweder mit Vorratsraum *d* oder mit dem Rohr *e* verbinden kann. *d* und *e* vereinigen sich in ihrem unteren Ende zu einem Ansatzstück. Dieses ist mittels eines dickwandigen Gummischlauches mit dem Behälter *H* verbunden. Der ganze Apparat wird in einem festen Stativ eingeklemmt und zwar so, daß der Behälter *H* auf verschiedenen Höhen befestigt werden kann. Die Hähne müssen so fixiert sein, daß sie nicht bei Erhöhung des Druckes herausgeschleudert werden können. Bevor man den Apparat in Gebrauch nimmt, überzeuge man sich, ob er dicht schließt. Hierzu füllt man den ganzen Apparat mit Quecksilber und schließt den Hahn *e*. Hierauf senkt man den Behälter so tief, daß das Quecksilber bis unter den Hahn fällt. Wenn der Apparat nicht dicht schließt, so wird dabei Luft angesaugt und beim Heben des Behälters *H* bis zur ursprünglichen Lage wird das Quecksilber nicht bis zum oberen Hahn steigen (wie es bei dicht schließendem Apparat der Fall ist), sondern einen Luftraum freilassen. In diesem Falle müssen die Hähne *e* und *f* gedichtet werden und die Probe nochmals wiederholt.

Ausführung der Bestimmung. In ein Zentrifugenglas bringt man etwa 0.05 g fein gepulvertes Kaliumoxalat und läßt aus der nicht gestauten Vene das Blut direkt aus der Nadel unter leichtem Bewegen des Glases direkt in dasselbe hineinfließen. Sind 10 cm³ hineingeflossen, so schüttelt man einige Male vorsichtig um. Mindestens eine Stunde vor der Blutentnahme ist stärkere Muskeltätigkeit zu vermeiden. Das Blut wird gut abzentrifugiert. Von dem abgeschiedenen Plasma bringt man etwa 3 cm³ in einen sauberen, trockenen Scheidetrichter von etwa 250 cm³ Inhalt. Jetzt wird das Plasma mit Kohlensäure folgenderweise gesättigt. Man verbindet das Ablaufrohr des Scheidetrichters durch einen Gummischlauch mit einer mit Glasperlen gefüllten Wasch-

flasche B (Fig 52) hält den Scheidetrichter horizontal und bläst zwölfmal Luft durch die Waschflasche über das Plasma in dem Scheidetrichter hindurch. Es wird jedesmal tief aber nicht forciert ausgeatmet. Hiernauf schließt man den Hahn g setzt den Stöpsel f auf entfernt den Trichter aus dem Gummischlauch. Durch langsames Drehen des Scheidetrichters wird das Plasma mit der Alveolarluft gesättigt. Es empfiehlt sich diese Sättigungsprozedur noch mals zu wiederholen. Das Durchblasen durch die Glas

Fig 52



perlen bezweckt die Entfernung der Feuchtigkeit aus der Luft da das Wasser sich auf den Glaskugeln niederschlägt.

Der Kohlensäuregehalt des Plasma wird folgender weise bestimmt. Nachdem der Apparat so mit Quecksilber gefüllt ist daß auch die Capillare des Behälters b dasselbe enthält bringt man in den Behälter b die 10%ige Ammoniaklösung um die eventuell darin enthaltenen Spuren Säure zu entfernen. Hiernauf entfernt man mit einer Pipette den größten Teil der Ammoniaklösung (es soll etwa 1 cm³ zurückbleiben). Hiernauf unterschichtet man mit einer Pipette 1 cm³ des vorbereiteten Plasma man öffnet den Hahn c und läßt durch leichtes Senken des Behälters B den größten Teil des Plasma den Hahn

passieren man schließt den Hahn setzt 0·4 destilliertes Wasser zu läßt wieder in derselben Weise den größten Teil den Hahn passieren man wiederholt diese Manipulation mit weiteren 0·5 cm^3 Wasser das ungefähr einen viertel Tropfen Oktylalkohol enthält, schließlich fügt man noch 0·5 cm^3 10%ige Schwefelsäure hinzu Es ist stets darauf zu achten daß beim Einlaufen der Flüssigkeiten keine Luft in den Apparat gelangt. Die hineingeführte Flüssigkeit muß bis zur Marke 25 des kalibrierten Rohres gelangen. Ist die Menge geringer so wird noch etwas Wasser nachgefüllt. Jetzt schließt man den Hahn *e* senkt das Gefäß *H* so tief daß die ganze Flüssigkeit in den Raum *g* gelangt und das Quecksilber bis zum Hahn *f* steht. Man schließt den Hahn *f* nimmt den Apparat aus dem Stativ heraus und dreht ihn etwa 15mal um wodurch die gesamte Kohlensäure freigemacht wird Jetzt befestigt man den Apparat wieder am Stativ stellt durch Drehung des Hahnes *f* eine Verbindung zwischen *g* und *d* her senkt das Gefäß *H* tiefer so daß die Flüssigkeit aus *g* nach *d* fließt es ist dabei zu achten daß kein Gas herausgeht und eine ganz geringe Menge Flüssigkeit im untersten Teile von *g* bleibt Nunmehr stellt man den Hahn *f* so ein daß eine Verbindung von *G* mit *c* zustande kommt und hebt das Gefäß *H* so daß das Quecksilber auf der gleichen Höhe mit dem Quecksilber im graduerten Rohr steht Man liest die Menge der Kohlensäure ab wobei auch der eventuell über dem Quecksilber stehende kleine Flüssigkeitsrest mitzurechnen ist.

Für klinische Zwecke genügt folgende einfache Berechnung des Ergebnisses Von der abgelesenen Zahl zieht man 0·12 ab (eine Durchschnittskorrektur für Temperatur und Druck) Wurde z. B. 0·58 abgelesen so beträgt die Alkalireserve für 100 cm^3 Plasma $0·58 - 0·12 = 0·46 \times 100 = 46$ In der Norm liegen die Zahlen zwischen 77 und 53 bei Kindern zwischen 63 und 46 Zahlen zwischen 40 und 30 bedeuten eine mäßige, unter 30 eine starke Acidose

Anhang III

Bestimmung des Grundumsatzes.

Unter Grundumsatz versteht man die Summe der Verbrennungen, die im ruhenden, nüchternen menschlichen Körper stattfinden. Man kann den Grundumsatz auf direktem Wege durch Messung der gebildeten Kalorien feststellen oder indirekt durch Messung des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäureausscheidung errechnen. Da die Calorimetrie beim Menschen ein sehr zeitraubendes Verfahren ist wird stets die Grundumsatzuntersuchung auf indirektem Wege ausgeführt. Man hat früher zu diesem Zwecke große Kastenapparate gebaut die sehr kostspielig waren und außerdem auch viel Zeit zur Ausführung eines einzelnen Versuches erforderten. Seitdem die Grundumsatzbestimmung für klinische Zwecke benutzt wird sind viel einfachere und doch ausreichend exakte sogenannte „Anschlußapparate“ zur Anwendung gekommen.

Von den vielen in der letzten Zeit angegebenen Anschlußapparaten werden in Deutschland am meisten die Apparate von *Knipping* und *Krogk* angewandt.

Bei dem *Knippingschen* Apparat wird die Luft innerhalb des Systems mit Hilfe einer Pumpe herumgetrieben so daß der an das System angeschlossene Kranke die aus dem Spirometer kommende sauerstoffreiche Luft ohne Hemmungen einatmen kann die Kohlensäure wird unterwegs resorbiert und nach Beendigung des Versuches genau bestimmt. Der Verbrauch an Sauerstoff wird in Form einer Kurve auf rotierender Trommel aufgetragen. Der *Knippingsche* Apparat arbeitet exakt er ist aber wegen seines hohen Preises und ziemlich umständlicher Methodik nur für größere Krankenhäuser und Kliniken geeignet. In der allgemeinen Praxis und in kleineren Anstalten kommt meist der *Krogksche* Apparat zur Anwendung und daher soll dieser hier ausführlicher beschrieben werden.

Er besteht aus einem kastenförmigen Spirometer (Fig 53) mit Aluminiumglocke die auf 2 Stahlspitzen um eine waagrechte Achse drehbar ist und durch ein Gegen

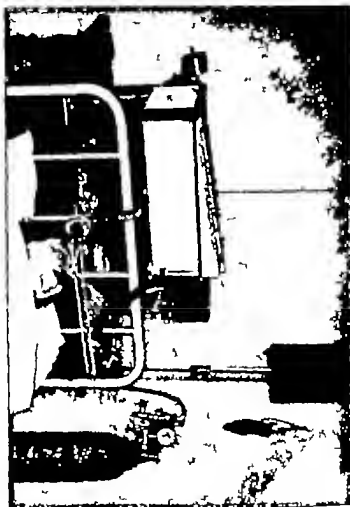


Fig 53

Apparat zur Untersuchung des respiratorischen Gasaustauschs nach der Methode von Prof Dr A Krogk, Kopenhagen.

gewicht in Gleichgewicht gehalten werden kann. In dem Spirometer befindet sich ein Netzeinsatz der mit grobkörnigen Natronkalk zur Absorption der Kohlensäure gefüllt wird. Das Spirometer wird durch 2 Schlauch

leitungen die durch Glasröhren miteinander verbunden sind an den Patienten angeschlossen. Die Nase des Kranken wird mit einer Klammer oder den Fingern des Arztes geschlossen. An der Grenze zwischen den Gummischläuchen und Glasröhren sind rechts und links Ventile eingeschaltet. Rechts Einatmungs-, links Ausatmungsventil. Beim Einatmen fließt die sauerstoffreiche Luft aus dem Spirometer durch das rechte Ventil in die Lungen des Patienten. Beim Ausatmen schließt sich das rechte Ventil und die Luft strömt durch das linke Ventil in den Spirometer wo die Kohlensäure durch Natronkalk adsorbiert wird. Während der Einatmung senkt sich die Glocke während der Expiration steigt sie hoch. Der an der Glocke befestigte Stift notiert auf der durch ein Uhrwerk in gleichmäßige Bewegung gebrachten Trommel eine Atmungskurve. Die Dauer des Versuches wird durch ein zweites Uhrwerk auf die Trommel aufgetragen.

Ausführung des Versuches*) Die Versuchsperson muß ein bis zweimal 24 Stunden eine vorwiegend vegetarische einweißarme Diät einhalten. Am Versuchstage selbst muß die zu untersuchende Person vollständig nüchtern sein d. h. die Einnahme der letzten Mahlzeit muß mindestens 12 Stunden vor dem Versuche erfolgt sein (am zweckmäßigsten um 7 Uhr abends vor dem Versuchstage). Patienten die direkt aus dem Bette zum Versuche kommen sollen ungefähr 10 Minuten vor dem Beginn des Versuches im Versuchszimmer ruhen. Ambulante Patienten besonders solche die vor dem Versuche einen mußten sollen eine halbe bis ganze Stunde im Versuchszimmer ruhen. Während des Versuches muß der Patient bequem und mit möglichster Entspannung der Muskulatur auf einem Ruhebett liegen. Zunächst wird durchgeführt daß die zwei vorstehenden Gummilappen zwischen die Zahnreihen kommen während der Mundstuckschluß

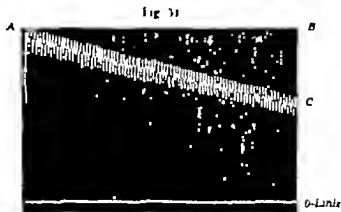
*) Die Einzelheiten über die Aufstellung des Apparates, die Spannung der Ventile usw. sind in der Gebrauchsanweisung angegeben.

zwischen Lippen und Zähnen eingeschoben wird. Nun wird die Spirometerglocke in die tiefste Stellung gebracht, worauf durch Umdrehung der Kymographiontrommel mit der Hand die Nulllinie gezogen wird. Jetzt wird die Sauerstoffbombe mit dem Spirometer verbunden und mit Sauerstoff so weit gefüllt, daß der Schreibestift zirka 1 cm vom oberen Trommelrand entfernt ist. Die Nase des Patienten wird jetzt verschlossen und er atmet zunächst 3 bis 4 Minuten in das Spirometer, um sich an die veränderten Atemverhältnisse zu gewöhnen. Erst nach Ablauf dieser Zeit wird das Kymographion in Gang gesetzt und zirka 6 bis 10 Minuten lang registriert. Das beschriebene Papier wird nun von der Trommel mit einem scharfen Messer abgelöst und in einer 10%igen alkoholischen Schellacklösung fixiert und darauf getrocknet. Die Ausmessung und Verwertung der erhaltenen Kurve geschieht folgendermaßen: Zunächst werden die Expirationspunkte (Anfang und Ende) der Kurve durch eine Gerade mittels eines Lineals verbunden (wellenartig verlaufende Kurven sind nicht zu verwerten). Hierauf wird vom Ausgangspunkt der Kurve eine Parallele zur Nulllinie gezogen, worauf aus dem Endpunkt der Kurve mittels des beigegebenen Meßlineals eine Vertikale gezogen wird, die die Parallele unter geradem Winkel schneidet. Es entsteht auf diese Weise ein rechtwinkliges Dreieck ABC , dessen kürzere Kathete direkt den Sauerstoffverbrauch in Litern anzeigt. Dieser Verbrauch kann durch Anlegen des Meßlineals abgelesen werden (Fig. 54).

Man liest genau die Zeit des Versuches ab und notiert die Größe, das Gewicht und Alter des Patienten. Die Berechnung wird am einfachsten nach *Arnold* folgenderweise ausgeführt. Es soll der Kalorienwert für eine Stunde bezogen auf 1 m² Körperfläche berechnet werden. Um die Berechnung zu vereinfachen werden folgende Voraussetzungen gemacht. Der respiratorische Koeffizient ($R-Q$) d. h. das Verhältnis der Kohlensäureabgabe zum Sauerstoffverbrauch ist 0.85. Diese Voraussetzung stimmt wie die klinische Erfahrung zeigt für den überaus größten Teil der Fälle in

den Fällen wo der R.-Q. von dieser Zahl abweicht ist der dadurch bedingte Fehler so gering, daß er für die klinische Beurteilung belanglos ist

Eine weitere Vereinfachung wird dadurch erzielt daß bei der Reduktion der abgelesenen Menge Sauerstoff auf 0° und 760 mm Quecksilbersäule nicht spezielle Tabellen benutzt werden sondern nur eine Zahl 0.9 da die Reduktionswerte bei Zimmertemperatur und den in unseren Breiten am häufigsten vorkommenden Barometerdrücken um diese Zahl schwanken 1 cm³ Sauerstoff bildet bei der



Verbrennung von Fett und Kohlenhydrate und bei einem R.-Q. von 0.85 etwa 4.8 kleine Kalorien. Multiplizieren wir den Sauerstoffverbrauch des Patienten pro Minute (erhalten aus der abgelesenen Literzahl geteilt durch die Minuten dauer des Versuches) mit den Zahlen $60 \times 0.9 \times 4.8 = 259.2$ so erhalten wir den Kalorienwert pro Stunde. Die erhaltene Zahl wird dividiert durch den jeweiligen Wert für die Oberfläche des Patienten. Dieser wird nach der Tabelle I von du Bois, Boothly und Sandiford folgenderweise festgestellt. Mit einem Lineal verbindet man die zutreffenden Punkte für Größe (Linie II) und Gewicht (Linie V). Wo diese Verbindungslinie die Linie IV schneidet, liest man die Oberfläche in Quadratmeter ab. Andererseits kann man

die zutreffenden Punkte für die Oberfläche (Lamie IV) und das Alter (Lamie I) verbinden um die Gesamtkalorienbildung pro die in der Norm im Schnittpunkte der Lamie III zu finden (Fig 55)

Nachdem der Kalorienwert pro Quadratmeter Körperoberfläche und pro Stunde für den untersuchten Kranken festgestellt ist wird in der Tabelle II für das entsprechende Geschlecht und Alter die Normalzahl aufgesucht und aus der Differenz die Abweichung von der Norm in Prozenten des Normalen berechnet

Beispiel für die Berechnung des Grundumsatzes

Eine 56 Jahre alte Frau von 66 kg Gewicht und 163 cm Körperlänge hat in 59 Minuten 1900 cm³ Sauerstoff verbraucht. Die Minutenzahl beträgt also $1900 : 5.9 = 322$ cm³. Multipliziert man diese Zahl mit 259.2 so erhält man 83462.4 kleine Kalorien für eine Stunde. Da der Kalorienwert gewöhnlich in großen Kalorien angegeben wird so müssen wir diese Zahl durch 1000 dividieren es sind also 83.462 große Kalorien. Die Zahl für die Körperoberfläche nach der Tabelle von *du Bois* beträgt 1.62. Dividieren wir also die Zahl 83.462 durch 1.62 = 51.5 so erhalten wir den Kalorienwert des Patienten pro Quadratmeter Oberfläche und eine Stunde. In der Tabelle der Normalzahlen finden wir für eine Frau zwischen 50 und 59 Jahren die Norm gleich 35. Die Differenz beträgt also $51.5 - 35 = 16.5$. Der Verbrauch ist also $\frac{16.5}{35} = 47\%$ höher als die Norm.

Die Berechnung kann auch nach den Tabellen von *Harris* und *Benedict* ausgeführt werden. Diese umfangreichen Tabellen sind bei *Knipping* und *Kowit*. Klinische Gasstoffwechseltechnik zu finden.

Die von *A. Kowarski* angegebene Modifikation des Kroghschen Apparates (s. Fig 56) hat folgende Vorzüge

Fig. 65

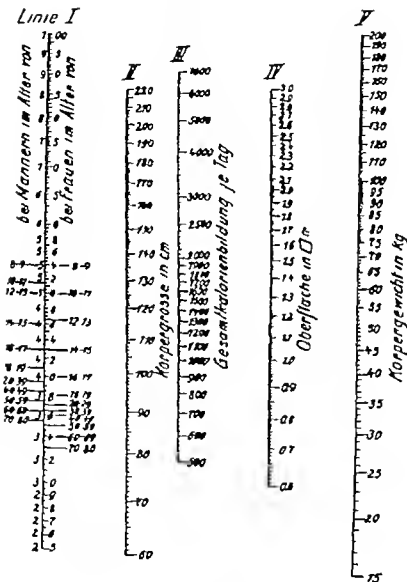


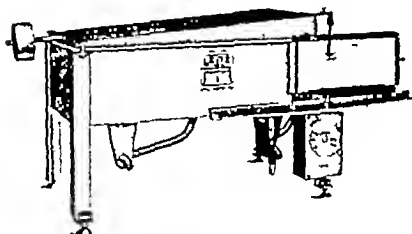
Tabelle I nach Dr. Boas, Boothby und Sandisford

Tabelle II (zu Bois).

Pro Quadratmeter Körperoberfläche und pro Stunde werden in der Norm an Kalorien gebildet

Alter	Männer	Frauen	Alter	Männer	Frauen
8—9 Jahre	54	51	20—29 Jahre	39.5	37
10—11 „	51.5	50	30—39 „	39.5	36.5
12—13 „	50	46.5	40—49 „	38.5	36
14—15 „	48	43	50—59 „	37.5	35
16—1 „	43	40	60—69 „	36.5	34
18—19 „	41	39	70—80 „	35.5	33

Fig. 56



1 Registriervorrichtung mit Zeitmesser gekuppelt ermöglicht jederzeit eine Übersicht über den Verlauf des Versuches.

2 Ebene Schreibtafel keine Trommel. Die Atmungskurve kann während des ganzen Versuches beobachtet werden

3 Aufzeichnung der Atmungskurve kann mittels Feder und Tinte oder auch mit einem Schreibstift auf berauhtem Blatt erfolgen

4 Verwendung von linierten Kurvenblättern von welchen sich Zeit und Sauerstoffverbrauch ohne weiteres ablesen lassen. Kein Lineal erforderlich. Die Versuchszeit wird direkt an der Uhr abgelesen (Das Zusammenzählen der Striche fällt weg) Nur ein Uhrmechanismus!

5 Bewegliches Anschlußrohr daher zwangloses Halten des Mundstückes. Belästigung des Patienten durch das große Gewicht der Rohrleitung wird vermieden

6 Durch ein Außenventil wird die Einübung des Patienten an regelmäßiges Atmen ermöglicht.

7 Größere Haltbarkeit durch Verwendung von nicht rostendem Stahl für alle mit dem Natronkalk in Berührung kommenden Teile

Über die Aufstellung und Betrieb des Apparates gibt die Gebrauchsanweisung Auskunft

Zur Frage der Verwertung der Befunde ist folgendes zu beachten. Schwankungen des Grundumsatzes bis zu 10% nach beiden Richtungen müssen als normal betrachtet werden. Nur darüber hinausgehende Abweichungen von der Norm dürfen als pathologisch aufgefaßt werden. Die Abweichungen nach oben können hohe Grade 70 80 bis 90% und darüber erreichen während nach unten die Abweichungen bedeutend geringer zu sein pflegen (20 bis 30%)

Die diagnostische und prognostische Bedeutung der Grundumsatzbestimmung liegt auf dem Gebiete der Krankheiten der Drüsen mit innerer Sekretion in erster Linie auf dem Gebiete der Schilddrüsenerkrankungen. Das Hormon der Schilddrüse das Thyroxin ist ein wichtiger Regulator der Oxydationsprozesse in den Zellen. Eine Hypersekretion dieses Hormons bedingt einen erhöhten Sauerstoffverbrauch und daher läßt sich durch die Grundumsatzbestimmung eine genaue Feststellung des Hyperthyreoidismus in den frühesten Stadien der Krankheit. Diese Methode gestattet also eine sichere Frühdiagnose der Basedowschen Krankheit und ihrer Formen frustes. Die Therapie verspricht bei diesen Formen viel mehr Erfolg als bei schon weit vorgeschrittenen schweren Formen. Der

Erfolg der Therapie kann auch genau festgestellt und verfolgt werden durch wiederholte Bestimmungen des Grundumsatzes. Auch für das Handeln des Chirurgen ist die Grundumsatzbestimmung bei der *Basedowschen* Krankheit von ausschlaggebender Bedeutung. Die klinische Erfahrung hat z. B. gezeigt, daß die partielle Resektion der Schilddrüse bei Hyperthyreotikern nur dann verhältnismäßig gefahrlos ist, wenn der Grundumsatz nicht über 30% erhöht ist. Daher werden z. B. in den meisten chirurgischen Kliniken Schilddrüsenoperationen ohne Grundumsatzbestimmungen nicht vorgenommen.

Bei der Diagnose des Myxödems ist die Untersuchung des Grundumsatzes von großer Bedeutung. Bei dieser Krankheit liegt stets eine Hypofunktion der Schilddrüse vor, also Erniedrigung des Grundumsatzes meist um 20 bis 30%.

Für die Differentialdiagnose verschiedener Fettsuchtypen kann die Grundumsatzbestimmung bis zu gewissem Grade verwertet werden. Bei Fettsucht infolge von Überernährung ist der Grundumsatz erhöht. Die hypothyreoidale (myxödematöse) Fettsucht zeigt wie schon erwähnt einen herabgesetzten Grundumsatz. Bei ovarieller testogener und hypophysärer Fettsucht ist der Grundumsatz normal. Zur Differenzierung dieser Formen wird von manchen Autoren die Bestimmung der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes herangezogen. Diese Bestimmung wird so ausgeführt, daß der Patient nach der gewöhnlichen Grundumsatzbestimmung ein Frühstück aus 250 g Fleisch (gebraten in 30 g Butter), einer Semmel und 1 Glas Tee oder Kaffee zu sich nimmt, worauf nach etwa 1½ Stunden Ruhe eine zweite Grundumsatzbestimmung vorgenommen wird. Bei normalen Menschen findet man dabei eine Erhöhung um 20 bis 40%. Bei hypophysärer Fettsucht soll dabei eine Herabsetzung der normalen Werte zu beobachten sein (die Erhöhung ist nur um 1 bis 5% zuweilen gar keine). Der Wert dieser Bestimmung wird jedoch bestritten, da auch ohne Fettsucht eine Herabsetzung der spezifisch-dynamischen Wirkung beobachtet wird.

V. Kapitel

Untersuchung der Punktionsflüssigkeiten

A Allgemeine Eigenschaften und chemische Untersuchung

Transsudate sind hellgelb mit grünlicher Nuance meist durchsichtig, reagieren schwach alkalisch und setzen beim Stehen ein meist geringes gallertartiges oder häutiges Fibringenetz ab. Die Ausscheidung des Gerinnsels kann durch Zusatz von etwas Blut beschleunigt werden, gewöhnlich geschieht diese minimale Blutbeimischung schon bei der Punktion.

Das spezifische Gewicht der Transsudate ist verhältnismäßig gering und wechselt mit dem Transsudationsorte. Nach den Untersuchungen von Reuß schwankt das spezifische Gewicht der Transsudate zwischen 1015 und 1005, die höchsten spezifischen Gewichte (bis 1015) findet man bei Hydrothorax, die niedrigsten bei Hydrokephalus.

Auch der Eiweißgehalt der Transsudate ist im Vergleich mit der Eiweißmenge der Exsudate gering und übersteigt selten 2,5%. Nur bei Ascites kann die Eiweißmenge bis zu einem Gehalt von über 4% steigen.

Exsudate zeigen größere Verschiedenheiten, man unterscheidet seröse, blutige, eitrige und jauchige Exsudate. Dementsprechend erscheint die Farbe, Durchsichtigkeit und Konsistenz dieser Produkte der Entzündung auch verschieden. Das spezifische Gewicht liegt bei allen über 1018, der Eiweißgehalt übersteigt 2,5%.

Indessen sind die Unterschiede im spezifischen Gewicht und Eiweißgehalt nicht so konstant, daß daran eine scharfe Trennung zwischen Exsudaten und Transsudaten in jedem einzelnen Fall möglich wäre. Man findet gar nicht selten Transsudate, die mit ihrem Eiweißgehalt die niederste Grenze des Eiweißgehaltes der Exsudate überschreiten und umgekehrt. Die Exsudate unterscheiden sich von den Transsudaten durch Gehalt eines durch Essigsäure fällbaren

Eiweißkörpers. Die Anwesenheit dieses Eiweißkörpers wird dadurch erkannt, daß die durch Filtrieren geklärte Flüssigkeit nachdem sie mit Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt ist eine deutliche Trübung oder Fällung zeigt. Nach *Rivalta* wird die Probe mit Essigsäure folgenderweise ausgeführt. Man läßt einen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit in ein Glas mit stark verdünnter Essigsäure (zwei Tropfen Eisessig auf 100 cm^3 Wasser) fallen. Handelt es sich um ein Exsudat, so hinterläßt der Tropfen beim Hinuntersinken einen deutlich sichtbaren weißen Zug. Transsudate lösen sich in der Essigsäurelösung vollständig auf.

Ovarialcysten. Der Inhalt der Eierstockcysten ist meist von zähflüssiger schleimartiger Konsistenz, hellgelb mitunter auch schmutziggelblich oder gelbgrün gefärbt. Das spezifische Gewicht zeigt große Schwankungen (zwischen 1005 und 1050). Charakteristisch für den Inhalt der Ovarialcysten ist die Anwesenheit eigenartiger Eiweißsubstanzen, von welchen das *Pseudomucin* (auch *Paralbumin* oder *Metalbumin* genannt) am häufigsten gefunden wird. *Pseudomucin* wird weder durch Essigsäure und Salpetersäure noch durch Kochen wohl aber durch Alkohol gefällt und dadurch unterscheidet es sich wesentlich von Mucin und Albumin. Die gewöhnlichen Eiweißarten (Albumin, Globulin) finden sich auch in wechselnden Mengen in der Ovarialcystenflüssigkeit.

Hydronephrosen. Der Inhalt der Hydronephrosen gleicht nach seiner Beschaffenheit meist einem verdünnten Harn, kann aber mitunter durch Beimischungen pathologischer Bestandteile (Schleim, Eiter) sein Aussehen verändern. Zur Identifizierung einer Flüssigkeit als Hydronephroseninhalte genügt der gleichzeitige Nachweis des Harnstoffes und der Harnsäure. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß diese Harnbestandteile in alten völlig abgeschlossenen Cysten fehlen.

Über den Nachweis des Harnstoffes und der Harnsäure vgl. Seite 152.

Echinokokkuscysten Die Echinokokkusflüssigkeit ist gewöhnlich klar von geringem spezifischem Gewicht reagiert alkalisch oder neutral enthält viel Kochsalz kein Eiweiß oder nur ganz geringe Mengen. Als charakteristischer Bestandteil der Echinokokkuscysten werden die Bernsteinsäure und ihre Salze betrachtet weil sie häufig in kleinen Mengen gefunden wurden

Eine eiwandfreie Diagnose einer Echinokokkuscyste kann jedoch nur durch die mikroskopische Untersuchung gestellt werden (Nachweis von Haken oder Membranen*)

Pankreascysten. Der Inhalt der Pankreascysten zeigt meist eine hämorrhagische Beschaffenheit. Die Flüssigkeit enthält Eiweiß (Serumalbumin) mitunter auch Mucin. Die Anwesenheit eines diastatischen Fermentes ist meist nachweisbar ist aber für die Diagnose wenig verwertbar weil Diastase auch in anderen Körperflüssigkeiten vorkommen kann viel wichtiger ist der Nachweis des Trypsins das jedoch auch fehlen kann Trypsin kann nach der Methode von *Groß-Goldschmidt* festgestellt werden (vgl. Untersuchung der Faeces) Über den Nachweis der Lipase vgl. S. 450

Bei der Untersuchung von Gelenkpunkten handelt es sich am häufigsten um die Feststellung des Erregers durch mikroskopische und kulturelle Verfahren. Bei eitrigen Gelenken findet man schön ausgebildete Kristalle von harnsaurem Natrium. Zu ihrer Identifizierung wird die Murexidprobe ausgeführt (vgl. S. 152). Bei den Ergüssen der Polyarthritus enterica und dysenterica findet man ein stark eiweißhaltiges Exudat mit polynucleären Leukocyten

Cerebrospinale Flüssigkeit Bei gesunden Menschen ist die durch Lumbalpunktion entleerte Flüssigkeit farblos wasserklar und besitzt ein niedriges spezifisches Gewicht (1003 bis 1008). Unter pathologischen

*) Über das Verhalten bei der Komplementblutungsreaktion vgl. Seite 443

Verhältnissen kann der Liquor cerebrospinalis durch Formelemente (am häufigsten Leukocyten) getrübt werden. Eine Gelbfärbung (Xanthochromie) infolge Beimischung von Blutfarbstoffderivaten findet man bei epileptiformen Zuständen, bei arteriosklerotischen Hirnerkrankungen und alten entzündlichen Prozessen der Meningen. Nach *Leschke* ist die Xanthochromie durch Bilirubin bedingt. Dies läßt sich leicht durch die Reaktion von *Hismans van der Bergh* (vgl. Seite 360) feststellen. Die Reaktion wird wie die indirekte Reaktion ausgeführt.

B Mikroskopische Untersuchung

Aus dem Zentrifugat untersucht man zunächst ungefärbte Präparate; gefärbte Präparate werden am besten so verfertigt, daß man das Sediment mit einer kleinen Pipette auf einem Deckglas oder Objektträger in dünner Schicht ausbreitet, an der Luft trocknen läßt und dann nach *Leishmann* oder *Giemsa* färbt (vgl. S. 315, 317).

Über die Untersuchung des Liquors vgl. Seite 475.

In den Transsudaten findet man sehr wenig Formelemente, spärliche meist in fettiger Umwandlung begriffene Leukocyten und vereinzelte Endothelien. Seröse Exsudate enthalten gewöhnlich neben Fibringerinnseln und roten Blutkörperchen (letztere werden meist während der Punktion beigemischt) Leukocyten und körnig oder fettig degenerierte Endothelien, die nicht selten große Vakuolen zeigen. Bei Gegenwart einer Neubildung (Krebs) ist die Zahl der vakuolenhaltigen Zellen bedeutend vermehrt; sie zeigen dann eine stark vorgeschrittene Fettmetamorphose und sind in großen Gruppen gelagert. Besonders müssen solche Zellengruppen den Verdacht auf eine Neubildung erwecken, wenn sie in einem hämorrhagischen Exsudat angetroffen werden.

Die französischen Autoren (*Widal*) haben zuerst den verschiedenen Arten von Leukocyten in den Punktionsflüssigkeiten eine diagnostische Bedeutung beigegeben. Sie haben folgende sogenannte cytologische Formeln aufgestellt:

hier wird die Lymphocytose als Frühsymptom der progressiven Paralyse angesehen. Man findet sie auch stets bei Tabes und Lues cerebrospinalis. Sie fehlt bei Neurosen so daß sie zur Abgrenzung der letzteren differentialdiagnostisch verwertet werden kann. Auch bei tuberkulöser Meningitis findet man ein Überwiegen der Lymphocyten in der Cerebrospinalflüssigkeit.

Von großer Bedeutung ist die Erkennung der Tumorzellen und Zellverbände in Punktionsflüssigkeiten. Auf Grund von sorgfältigen Studien gibt Quensel folgende Differenzierungsmerkmale der Geschwulstzellen und ihrer Verbände. Die Krebszellen treten als Häufchen meist in Form von runden Ballen oder Klümpchen auf die an den Rändern scharf konturiert sind und in denen die Zellen in verschiedenem Niveau liegen (im Gegensatz zu der flachen Endothelhäutchen). Ein wichtiges Merkmal ist die Beschaffenheit der Kerne und der Kernkörperchen. Die Kerne sind oft ungewöhnlich groß, die Kernkörperchen der malignen Geschwulstzellen sind vergrößert, an Zahl vermehrt und in der Form unregelmäßig. Die Größe der Nucleolen beträgt 2 bis 4 μ , steigt nicht selten bis 6 bis 9 μ , ausnahmsweise noch mehr, sie sind gewöhnlich rund, aber öfters auch länglich oder unregelmäßig eckig. Das Vorkommen von Fett und Vakuolen in den Zellen der Ergüsse ist nach Quensel an und für sich nicht spezifisch für die Geschwulstzellen, da es im gleichen Maße auch in Endothelien bei hydropischen Ergüssen zu beobachten ist. Auftreten von Zellen mit riesigen Vakuolen spricht für den Geschwulstcharakter.

Zur besseren Darstellung der Kernveränderungen an den Geschwulstzellen empfiehlt Quensel seine Vitalfärbung. Der hierzu erforderliche Farbstoff (Sudan-Cadmium + Methylenblau-Cadmium) ist von Carl Hollborn (Leipzig) zu beziehen. Die Methodik ist sehr einfach. Man vermischt auf dem Objektträger einen Tropfen des Zentrifugats mit einem bis zwei Tropfen des Farbstoffes, deckt mit einem Deckglas zu und untersucht nach einigen Minuten das

Fett erscheint rot der Zelleib hellblau die Kerne und Nucleolen dunkelblau

Bei der Untersuchung der Echinokokkusflüssigkeiten ist das Auffinden von Haken und Membranen für die Diagnose viel beweisender als der chemische Nachweis der Bernsteinsäure. In Ovarialcysten findet man außer roten und weißen Blutkörperchen fettig degenerierte und vakuolenhaltige Zellen charakteristisch sind Zylinderepithelzellen Flimmer und Becherzellen und Kolloidkonkremente.

Bei der Untersuchung des Liquor cerebrospinalis kommen folgende Methoden in Betracht

- 1 Zählung der Leukocyten
2. cytologische Untersuchung
- 3 Bestimmung des Eiweißgehaltes eventuell des Zuckergehaltes
4. Reaktion von *Vonne-Apelt* eventuell *Pandys* oder *Weichbrodts* Reaktion
- 5 *Wassermannsche* Reaktion sowie Flockungsreaktionen
6. Goldsolreaktion von *Langs*
- 7 Mastixreaktion von *Emannal*
- 8 *Takata Ara* Reaktion
- 9 bakteriologische Untersuchung

Die Zählung der Leukocyten soll möglichst bald nach der Punktion ausgeführt werden (um Zytolyse zu vermeiden) Man bringt nach *Samson* mit einer feinen Capillarpipette 10 Tropfen des Liquors in ein kleines Reagensglas und setzt mit derselben Pipette einen Tropfen einer Farblösung von folgender Zusammensetzung hinzu

Eisessig	30·0
Ac. carbol. liqnes	2·0
Alkoholische Fuchsinlösung (1 10)	2·0
Aq dest	ad 100·0

Man schüttelt gut durch und läßt eine halbe Stunde stehen. Hierauf wird gezählt (Diese Art der Färbung

des Liquors hat den Vorteil daß weniger Liquor verbraucht wird und eine bessere Färbung der Leukocyten erzielt wird)

Zur Zählung benutzt man entweder die speziell für diesen Zweck angegebene Zählkammer (nach *Fuchs Rosenthal*) oder die gewöhnliche Zählkammer nach *Türk*. Die Herstellung des Präparates geschieht in üblicher Weise. Man zählt bei mittlerer Vergrößerung (*Leitz*, Objektiv 5 oder 7) sämtliche Quadrate ab d. h. alle Leukocyten die im Bereich des Netzes liegen. Bei der Berechnung multipliziert man bei der *Türkschen* Kammer die erhaltene Zahl mit 125 bei der *Fuchs Rosenthalschen* mit $\frac{11}{12}$. Es gelingt auch ohne jeden Zusatz die Leukocyten im Liquor auszuzählen. In diesem Falle muß von der berechneten Zahl 10% abgezogen werden. Vor der Zählung muß der Liquor gut durchgeschüttelt werden. Die normale Cerebrospinalflüssigkeit enthält einen bis fünf Leukocyten im Kubikmillimeter der Grenzwert beträgt sechs bis neun im Kubikmillimeter, die Zahl von 10 bis 20 bedeutet eine geringe 20 bis 50 eine mittlere und über 50 eine starke Pleocytose.

Cytologische Untersuchung Der Rest des Liquors wird kräftig abzentrifugiert (20 Minuten auf der elektrischen Zentrifuge) die klare Flüssigkeit wird möglichst restlos vom Sediment in ein Reagensglas abgegossen. Das Sediment wird mittels einer Capillarpipette aufgesaugt und auf einem Objektträger in dünner Schicht aufgestrichen getrocknet und nach *Pappenheim* oder *Leishman* (vgl. Die Untersuchung des Blutes) gefärbt. Bessere Bilder erhält man wenn das Sediment vor dem Ausstreichen mit einem Tropfen Blutserum vermischt wird. Die Bestimmung des Prozentgehaltes verschiedener Leukocytenarten geschieht in derselben Weise wie bei der Blutuntersuchung.

Die Bestimmung des Eiweißgehaltes (es handelt sich hier meist um geringe Mengen) wird am zweckmäßigsten nach der *Brandbergschen* Methode (vgl. Harnuntersuchung) ausgeführt. (Die von *Nissl* angegebene Modifikation der *Esbachschen* Methode bietet

keine besonderen Vorteile.) Die Bestimmung des Eiweißgehaltes sowie die nachfolgende *Nonne-Apelt*sche und ihr analoge Reaktionen können für die Diagnose nur dann verwertet werden wenn der Liquor keine Beimischung von Blut enthält. Der normale Eiweißgehalt des Liquors ist 0.2 bis 0.3‰.

Die Bestimmung des Zuckergehaltes wird vorgenommen hauptsächlich zur Differentialdiagnose zwischen einer beginnenden Encephalitis und Meningitis bei letzteren ist der Zuckergehalt erniedrigt. *Hottinger* gibt folgende Zuckerwerte im Liquor für verschiedene Erkrankungen

Poliomyelitis	50—80 mg%
Encephalitis	70—110
Meningitis	10—60
Laes cerebri	10—80
Normal	60—80

Die Zuckerbestimmung wird nach denselben Methoden wie im Blute ausgeführt.

Die Reaktion von *Nonne-Apelt* (Phase I) Das Wesen der Reaktion besteht in Ausfällung von Fibrinogen durch Halbsättigung mit Ammonsulfat. Die zur Ausführung der Reaktion notwendige gesättigte Lösung wird so hergestellt daß man 85 g Ammonii sulfur purissimi (*Merck*) in einen Kolben mit 100 cm³ destillierten Wassers bringt und so lange kocht bis sich nichts mehr auflöst. Man läßt erkalten und filtriert. Die Lösung darf nicht sauer reagieren. Tritt bei längerem Stehen eine saure Reaktion ein so kann man sie durch tropfenweisen Zusatz von Liquor ammonii caustici wieder amphoter machen.

Ausführung. In einem kleinen Reagenzglas überschießt man vorsichtig 1.0 cm³ der gesättigten Ammonsulfatlösung mit 1.0 cm³ Liquor. Nach drei Minuten sieht man nach, ob sich an der Berührungsstelle eine ringförmige

Hiervon setzt man 1 cm³ jedem Röhrchen zu schüttelt und läßt über Nacht stehen

Man kann bei Materialknappheit die ganze Reaktion auch in halben Dosen also mit 0.5 Liquor 0.5 Verdünnungsflüssigkeit und 0.5 Mastixsol ansetzen

Bei normalen Liquoren tritt höchstens in den beiden ersten Röhrchen eine geringe nichtmilchige Trübung (Ablesungsgrad 1) auf alle übrigen bleiben klar und durchsichtig

Bei pathologischen Liquoren treten Trübungen und Flockungen ein die Trübungen sind nach wenigen Minuten, die Flockungen erst nach 12 bis 24 Stunden ablesbar

Bei der Ablesung unterscheidet man fünf Flockungsgrade

1 leichte Trübung (Gelbfärbung)

2 milchige diffuse Trübung

3 Trübung mit Bodensatz

4 starker Bodensatz überstehende Flüssigkeit leicht getrübt

5 vollständige Ausflockung, überstehende Flüssigkeit klar

Flockungen im Anfangsteile der Kurve (links) sprechen für luische Affektionen im Mittel bis Endteile (rechts) für meningitische. Bluthaltiger Liquor macht meist Trübungen im Mittelteile der Kurve. Als Typen für die Mastixreaktion mit Mastix Spinotest werden folgende Kurven angegeben wobei die Zahlen die Flockungsgrade bezeichnen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Typus für normalen Liquor	0-1	0-1	0	0	0	0	0	0	0	0
Lues cerebri	3	4	4	3	2	1	0	0	0	0
Tabes	4	5	4	3	2	1	0	0	0	0
Paralyse	5	5	5	4	3	2	1	0	0	0
Meningitis	0	1	2	3	3	4	3	2	1	0

Sowohl für die Goldsol wie die Mastixreaktion sind Punktate mit Blutbeimischung nicht geeignet

Die *Takata Ara Reaktion* Über das Prinzip der Reaktion und die Zusammensetzung der Reagenzien s. S. 453 Die Ausführung geschieht in der Weise daß man Verdünnungen mit 0·3%igen Kochsalzlösung in geometrischer Progression herstellt (1·0 Liquor + 1·0 Kochsalzlösung mischen hiervon 1·0 + 1·0 Kochsalzlösung usw.) Es genügen sechs Verdünnungen Zu jedem Röhrchen wird sodann ein Tropfen 10%ige Sodalösung und 0·3 cm³ des Takata Reagens zugeetzt (Jacobsthal und Josl empfehlen anstatt eines Tropfens 10%ige Sodalösung 0·25 cm³ einer 2%igen Sodalösung dadurch sollen unspezifische Niederschläge vermieden werden) Man läßt die gut vermaschten Röhrchen eine Stunde stehen und liest die Resultate ab Am deutlichsten ist die Reaktion nach 20 Stunden abzulesen

Sie ist positiv bei Metaknos negativ bei entzündlichen Prozessen (Meningitis usw.) Blutbeimischung stört die Reaktion nicht wenn mit abzentrifugierter Flüssigkeit gearbeitet wird

C. Bakteriologische Untersuchung von Punktionsflüssigkeiten.

Das Untersuchungsmaterial wird durch Probepunktion oder bei Gelegenheit therapeutischer Eingriffe (Empyemoperation, Lambdapunktion, Okzipitalpunktion usw.) gewonnen.

I. Methodik der Untersuchung.

Mikroskopische Untersuchung Das Untersuchungsmaterial wird in sterilen Zentrifugenröhrchen zentrifugiert. Trübe zellreiche Punktate ergeben ein reichliches Sediment. Bei serösen Exsudaten zentrifugiert man einen möglichst großen Teil in einem sterilen Zentrifugenröhrchen, indem man es nach dem Zentrifugieren immer wieder von neuem auffüllt. Das Sediment wird

mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Die von ihm hergestellten Präparate werden zehn Minuten in Methylalkohol fixiert zur Feststellung der zelligen Elemente nach *Giemsa* oder *Leishman* (bei letzterer Methode ohne vorhergehende Fixierung vgl. Seite 316 bis 317) zur bakteriologischen Untersuchung mit verdünntem Methylenblau nach *Gram* und *Ziehl-Neelsen* gefärbt. Zum Nachweis von Tuberkelbacillen kann auch das Sedimentierungsverfahren mit Antiformin herangezogen werden. Ergibt das Punktat ein reichliches Sediment, so wird es mit 25%igem Antiformin versetzt. Seröse Exsudate, die beim Zentrifugieren in der Regel nur ein sehr geringes Sediment liefern, werden mit der gleichen Menge einer 50%igen Antiforminlösung versetzt. Hat sich im Exsudat ein gallertiges oder fibrinöses Gerinnsel gebildet, so wird dieses ebenfalls in 25%iger Antiforminlösung aufgelöst. Die weitere Behandlung geschieht nach der bei der Sputumuntersuchung geschilderten Methode.

Sehr häufig sind die Krankheitserreger in den Punktionsflüssigkeiten in so geringer Anzahl vorhanden, daß man eine ganze Reihe von Präparaten durchmustern muß, ehe man vereinzelte Bakterien findet. Zu der Untersuchung des Liquor cerebrospinalis auf Tuberkelbacillen läßt man das Punktat im Reagensglas senkrecht und vor Erschütterung geschützt 24 Stunden im Eisschrank stehen, dann bildet sich ein in der Flüssigkeit suspendiertes feines spinnenwebenartiges Fibrinnetz, das neben dem durch Zentrifugieren gewonnenen Sediment zur Untersuchung benutzt wird. Die Bildung des Fibrinnetzes ist charakteristisch für tuberkulöse Meningitis. Sein Vorkommen bei anderen Meningitisformen ist selten. Bei tuberkulöser Meningitis wird es fast nie vermißt (s. S. 486).

Finden sich mikroskopisch keine Mikroorganismen, so müssen die kulturelle Untersuchung und, wenn erforderlich, das Tierexperiment zu ihrem Nachweis herangezogen werden. In einer Anzahl von Fällen, besonders wenn es sich um alte Ergüsse handelt, versagen auch diese Methoden.

Untersuchung der Punktionsflüssigkeiten.

Das Kulturverfahren Die Wahl des Nährbodens hängt von der Art der im Präparat nachgewiesenen Mikroorganismen ab. Bei negativem Ausfall der mikroskopischen Untersuchung muß man verschiedenartige Nährböden zur Aussaat benutzen. Es kommen Agar Ascites oder Serum agar Blutagar Levinthalagar (zur Zucht der Influenzabacillen Meningo- und Streptokokken) ferner Ascites- und Traubenzuckerbouillon zur Verwendung. Eine Öse des durch Zentrifugieren gewonnenen Sedimentes wird in der üblichen Weise auf den Nährboden verimpft. Beim Vorhandensein weniger Keime versucht man sie durch eine Vorkultur im flüssigen Nährboden (Ascitestraubenzuckerbouillon oder Levinthalbouillon) anzureichern. Nach 16- bis 24stündiger Bebrütung bei 37° wird mikroskopisch untersucht und auf geeignete feste Nährböden weitergeimpft. Zum Zuchtversuch auf Tuberkelbacillen verimpft man von dem Sediment auf Eiernährboden.

Tierexperiment Der Tierversuch muß sowohl was die Wahl des Versuchstieres als auch die Ausführung anlangt dem Krankheitserreger angepaßt werden. Auf dessen Vorhandensein man Verdacht hat oder den man identifizieren will. So wird man zur Identifizierung bzw. zum Nachweis von Streptokokken und Pneumokokken die weiße Maus von Tuberkelbacillen das Meerschweinchen als Versuchstier benutzen.

Bei der Untersuchung auf Tuberkelbacillen wird das Tierexperiment meist sicherer zum Resultat führen als das mikroskopische Präparat und Kulturversuche. Zur Tierimpfung wird das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment und bei serösen Exsudaten auch das (erinnsel verwendet das in eine kleine Hauttasche gebracht wird.

Bei Verdacht auf Tuberkulose und Gonorrhoe empfiehlt es sich die Punktate auch bei etwiger Beschaffenheit serologisch mittels Komplementablenkungsreaktion zu untersuchen. Die Technik weicht von der bei Untersuchung des Blutes geschilderten nicht ab. Zu be-

rücksichtigen ist daß bei bestehender Tuberkulose der positive Ausfall der Gonorrhoeeraktion nur mit Vorsicht zu verwerten ist.

II Die wichtigsten bakteriologischen Befunde.

Peritonitische Exsudate. Der bakterielle Befund bei akuten Peritonitiden hängt vor allem von dem Organ ab, von dem die Entzündung ausgeht. Sehr häufig sind Mischinfektionen. Ist die Bauchfellentzündung intestinalen Ursprunges, so finden sich vornehmlich zur *Bacterium-coli*-Gruppe gehörige Stäbchen, daneben meist auch andere Mikroorganismen der Darmflora, wie Staphylokokken, Enterokokken, *Proteus vulgaris*, *Bacillus pyocyaneus* usw. Die von den weiblichen Genitalien ausgehenden Infektionen des Peritoneums werden am häufigsten von Gonokokken hervorgerufen, die periphere Bauchfellentzündung von Streptokokken und anderen Entzündungserregern. Bei Infektion von der Blutbahn aus sind zumeist Strepto- oder Pneumokokken nachgewiesen, bei Bauchfellentzündung im Anschluß an Operationen Streptokokken. Auch Typhusbacillen, *Actinomyces*, diphtheroide und anaerobe Bacillen sind in peritonitischen Exsudaten gefunden worden. Von größter Bedeutung und schließlich die Tuberkelbacillen als Erreger chronischer Peritonitis.

Pleuritische Exsudate. Die pleuritischen Exsudate haben ebensowenig wie die peritonitischen eine einheitliche Ätiologie. Sowohl die Tuberkelbacillen wie sämtliche pyogenen Mikroorganismen können zur Bildung von Pleuraergüssen führen.

Die serösen Exsudate sind häufig tuberkulöser Natur. Besonders wenn ihre mikroskopische und kulturelle Untersuchung negativ ausfällt, liegt der Verdacht nahe, daß sie tuberkulösen Ursprunges sind. In solchen Fällen müssen zur Stellung der Diagnose die kulturelle Untersuchung (Verimpfung auf Lärnährboden) und der Meerschweinchenversuch herangezogen werden.

In eitrigen Exsudaten werden am häufigsten Streptokokken angetroffen, ferner Pneumo- Staphylokokken, *Diplobacillus Friedländer*, Tuberkelbacillen. Seltener Befunde stellen Influenzabacillen und *Micrococcus tetragenus* dar. Typhusbacillen wurden in pleuritischen Ergüssen im Verlauf des Abdominaltyphus nachgewiesen.

Metapneumonische Pleuraergüsse enthalten häufig Pneumokokken allein oder zusammen mit Staphylo- und Streptokokken.

Jauchige Exsudate enthalten neben den Eiterkokken Faulbakterien und anaerob wachsende Arten, darunter nicht selten *Bacillus fusiformis*. Es zeigen sich dann neben gramnegativen Stäbchen mit spitzen Enden lange, oft peitschenartig verschlungene, überwiegend in Knäueln angeordnete Fäden.

Cerebrospinalflüssigkeit. Bei tuberkulöser Meningitis ist die Punktionsflüssigkeit meist wasserklar oder etwas opaleszierend, mitunter aber auch reich an Leukocyten und dann mehr oder weniger

Untersuchung der Punktionsflüssigkeiten.

trübe Im Frühstadium der Erkrankung findet man besonders bei Kindern häufig reine Lymphocytose In anderen Fällen vor allem bei Erwachsenen sind auch polymucleäre Leukocyten nachweisbar aber immer überwiegen die Lymphocyten Die polymucleären Leukocyten zeigen stets degenerative Veränderungen Man findet neben Exemparen deren Zellleib und Kern gequollen ist verkleinerte geschrumpfte Formen mit pyknotischem Kern

Bei akuten, nichttuberkulösen Meningitisformen wechselt die Beschaffenheit des Punktes auch bei gleicher Entstehungsweise je nach der Intensität des Prozesses er kann serös, fibrinös, fibrinös-eitrig oder rein eitrig sein

Im eitrigen Punktat der tuberkulösen Meningitis sind die Tuberkelbacillen im Sediment leicht nachweisbar Im klaren Liquor finden sie sich am ehesten in dem spinnenwebartigen Gennnsel das sich nach längerem ruhigem Stehen bildet (s S 181) Zur Entnahme des Gennnsels gießt man den Liquor in eine Petrischale in der ein Objektträger liegt auf dem es sich leicht ausbreitet wenn man ihn von der schmalen Kante aus anhebt (Gut an der Luft trocknen lassen Vorsicht beim Abspülen des Präparates nicht zwischen Fließpapier trocknen!)

Die Bildung des Gennnsels kann ausbleiben wenn das Punktat z. B. beim Transport stark geschüttelt wurde In solchen Fällen gelingt der Nachweis der Tuberkelbacillen, wenn man durch Zusatz einiger Tropfen 20%iger Sulfosalizylsäure zum Punktat das Eiweiß ausfällt zentrifugiert und das so erhaltene Sediment farbt. Das Sediment kann auch nach Behandlung mit 6%iger Schwefelsäure (vgl. S 40) zur kulturellen Untersuchung verwandt werden.

Der Erreger der Meningitis cerebrospinalis epidemica ist der Dipl. intracellularis meningitidis Weichselbaum (vgl. Seite 14 bis 18) Bei der akuten primären sporadisch auftretenden Form der Meningitis findet sich meist der Diplococcus pneumoniae Als Erreger der sekundären cerebrospinalen Meningitis sind Pneumostaphylo- Streptokokken Influenzabacillen Diplobacillus

Friedländer Bacillen der Typhus-Coli Gruppe beschrieben worden Seltener werden Pestbacillen, Aktinomyces Rottetragenus und anaerobe Arten gefunden

Meningitis cerebrospinalis epidemica (Tafel XXII Fig 1)

Die Untersuchung der Lumbalflüssigkeit muß sobald als möglich nach der Entnahme vorgenommen werden da sonst die Zuchtung der Meningokokken häufig mißlingt. Einen günstigen Einfluß auf die Lebensfähigkeit der Meningokokken üben Traubenzuckerlösungen aus. Es empfiehlt sich daher dem Punktat wenn es nicht gleich nach der Gewinnung untersucht werden kann auf je 5 cm³ 0.5 bis 1 cm³ steriler 10%iger Traubenzuckerlösung zuzusetzen. Die Lumbalflüssigkeit wird zentrifugiert von dem Sediment werden Präparate mit verdünntem Methylenblau und nach Gram gefärbt Mitunter finden sich in ihnen ziemlich zahlreiche extra und intracellulär liegende gramnegative Diplokokken vom typischen Aussehen der Meningokokken (vgl S 14) Sie liegen einzeln oder in kleinen Häufchen zusammen niemals bilden sie Ketten Wie in der Reinkultur finden sich auch in Präparaten aus der Lumbalflüssigkeit häufig Tetrakokken Charakteristisch sind die Unterschiede in der Größe und Färbbarkeit der einzelnen Kokken. Vielfach finden sich die Meningokokken im mikroskopischen Präparat nur in geringer Anzahl mitunter gelingt ihr Nachweis überhaupt nicht In derartigen Fällen kann man noch ein positives Resultat erhalten wenn man die Punktionsflüssigkeit auf zirka 12 Stunden unter Zusatz von etwas Traubenzuckerbouillon (s o) zur Anreicherung in den Brutschrank stellt und dann nochmals untersucht War das Punktat schon auszentrifugiert so schwimmt man das Sediment in 1 cm³ 2%ige Traubenzuckerascitesbouillon und untersucht nach zwölfstündiger Bebrütung bei 37°

Da in der Lumbalflüssigkeit andere Kokken mit den charakteristischen Eigenschaften der Meningokokken nicht vorkommen genügt zur Diagnosestellung häufig

die mikroskopische Untersuchung allein Finden sich im gefärbten Präparat keine Meningokokken so gelingt ihr Nachweis oft noch durch das Kulturverfahren

Zur Züchtung der Meningokokken werden Kulturen auf Ascitesagarplatten angelegt eventuell nach vorher gehender Anreicherung spärlicher Keime in Ascitestrauben zuckerbouillon Die Platten werden nach 24 bis 48stündiger Bebrütung bei 37° untersucht die verdächtigen Kolonien abgestochen und auf schrägen Ascitesagar zur Gewinnung von Reinkulturen übertragen Die Reinkulturen werden durch Überimpfung auf Ascteslackmuzzuckeragar und durch Agglutination identifiziert (vgl. S 15)

VI Kapitel

Bakteriologische Untersuchung bei Erkrankungen der Haut

Hauterfahrungen

Das Untersuchungsmaterial wird in der Regel durch Punction mit steriler Spritze oder durch Incision gewonnen. Es ist besonders darauf zu achten, daß Untersuchungsmaterial das kulturell untersucht werden soll, nicht mit Desinficirungen in Berührung kommt.

Die Untersuchung ist wie gewöhnlich eine mikroskopische und kulturelle. Der Tierversuch wird bei negativem Ausfall dieser beiden Methoden und zur Identifizierung gezuchteter Bakterien herangezogen.

Als Erreger furunkulöser Prozesse sind fast stets Staphyl. aureus oder albus mikroskopisch und durch Züchtung auf den üblichen Nährböden nachweisbar Im Panaritiumelter finden sich am häufigsten Staphylokokken aber auch Streptokokken und B coli In akuten Abscessen und Phlegmonen begegnet man neben den sogenannten pyogenen Bakterien Pneumokokken Typhusbacillen usw Bei größeren Abscessen gelingt der Nachweis der Mikroorganismen in dem aus dem Zentrum entnommenen Eiter häufig nicht während sie sich in der Peripherie in der Absceßmembran leichter auffinden lassen. In den sogenannten kalten Abscessen lassen

sich in der Regel weder mikroskopisch noch kulturell Bakterien nachweisen. Auch das Vorhandensein von Tuberkelbacillen ist gewöhnlich erst durch Überimpfung des Eiters auf Meerschweinchen oder durch Verimpfung auf Eiernährboden festzustellen. Das Vorkommen *Muckscher* Granula (vgl. S. 38) weist auf die tuberkulöse Natur des Prozesses hin.

Gasbrand (Gasangrän, Gasphlegmone, Gasödem). Die Ätiologie dieser Wundinfektionskrankheit ist keine einheitliche. Als Erreger kommt eine Gruppe obligat anaerober im Erdboden lebender Bakterien in Betracht, die den Buttersäurebacillen zuzurechnen sind. Ihre Pathogenität beruht auf den von ihnen erzeugten Toxinen. Die wichtigsten Erreger sind *Bacillus Welch* Fränkel, der *Novysche Bacillus* des malignen Ödems, der *Pararauschbrandbacillus* und *Bacillus histolyticus*.

Am häufigsten wird der *Welch-Fränkelsche Gasbacillus* (*Bac. phlegmones emphysematodes*) gefunden. Er ist ein ziemlich plumpes, dickes, unbewegliches Stäbchen, das im Tierkörper Kapseln zeigt, sich mit verdünnten Anilinfarbstoffen und nach *Gram* färbt, nur ausnahmsweise Sporen bildet. In älteren Kulturen findet man neben grampositiven auch gramnegative Stäbchen. Er entwickelt sich nur unter streng anaeroben Bedingungen, am besten bei Körpertemperatur. Er wächst auf allen zuckerhaltigen Nährböden unter starker Gasbildung, verflüssigt Gelatine und bringt Milch zur Gerinnung. Die Kulturen zeigen keinen oder einen leicht ranigen Geruch, niemals Faulnaggestank. In Agarschüttelkulturen entstehen fast immer geschlossene, linsenförmige, scharf umrandete Kolonien. Stehen sie sehr dicht, so zeigen sie zuweilen einen dichten Kern, von dem feine Ausläufer ausgehen. Nur selten finden sich aufgefaserter Kolonien. Auf der Oberfläche von Agarröhrchen entsteht ein grauweißer, fadenziehender Belag. Gekochtes Fleisch wird nicht geschwärzt. Leberbouillon wird schon nach wenigen Stunden diffus getrübt und schaumig. Auf der Blutplatte entstehen meist knopförmig erhabene, glänzende, seltener flache, matte, rauhe Kolonien, die von einem undurchsichtigen, schmutziggelben Hof umgeben sind. Der *Bacillus* ist für Meerschweinchen, aber nicht für weiße Mäuse und Kaninchen pathogen. Beim Meerschweinchen entwickelt sich nach subcutaner Impfung in die Bauchhaut ein der menschlichen Erkrankung ganz ähnliches Krankheitsbild. Es entsteht ein von der Impfstelle ausgehendes, schnell fortschreitendes Emphysem mit sonderartigem Zerfall des Unterhaut- und Muskelgewebes und geringem Austritt annähernd klaren, fleischwasserartiger, geruchloser Flüssigkeit. Der Tod der Tiere tritt innerhalb 24 Stunden ein. Von der Impfstelle und aus dem Herzblut gelangt die Zucht der Bacillen.

Nächst dem *Fränkelschen Bacillus* findet sich am häufigsten der *Novysche Bacillus* des malignen Ödems als Erreger des Gasödems. Er ist der längste und dickste *Bacillus* unter den Anaero-

liern. Er bildet Riesengeißeln, ist aber bei Zutritt von Sauerstoff nur schwach beweglich. Kapseln fehlen. Auf den meisten Nährböden bildet er spärliche, meist mittelständige Sporen, die den Bacillus nicht aufstreifen. Ihr Verhalten nach *Grass* ist sehr labil, häufig wird die Mehrzahl der Stäbchen entfarbt. In Agarachtstkulturen ist das Wachstum ein langsames, es entstehen unter starker Gasbildung aufgefaserte durchscheinige Kolonien. Auf Hirnbrei wachsen die Bacillen unter Geseentwicklung, ohne ihn zu schwarzen. Flüssige Nährböden werden unter Gasbildung leicht diffus getrübt, sie riechen leicht ranzig, niemals weisen sie stinkenden Fäulnisgeruch auf. Milch wird zur Gerinnung gebracht, Gelatine erflüssigt. Die Kolonien auf der Traubenzucker Blutagar Platte setzen sich „aus einem Geflecht lockenformig angeordneter Schlingen zusammen, die im Zentrum ein dickes, massiges Geflecht bilden, an der Peripherie aus der Kolonie heraustreten und unter Bildung parallel angeordneter Schlingen wieder in die Kolonie zurückkehren“ (*J. Zussler*). Die hamolytischen Hofe sind goldgelb und durchsichtig. Der *Versyche* Bacillus ist für fast alle Tiere pathogen. Sein Toxin erzeugt ein gallertglasiges, farbloses Ödem mit oder ohne kleine Gasblasen. Seine Züchtung ist erheblich schwieriger als die des *Frankschen* Bacillus.

Die *Pararauachbrandbacillen* sind schlanke, mittel große, begeißelte Stäbchen von wechselnder Form sie bilden mittel oder endständige Sporen, keine Kapseln. In jungen Kulturen sind sie grampositiv in älteren gramnegativ. Auf Blutagar bildet sich ein Bakterienrasen mit kurzen Ausläufern; die Hamolyse ist entsprechend der Entwicklung der Bakterienrasen mehr oder weniger ausgesprochen, es entstehen goldgelbe, durchsichtige Höfe. Milch wird zur Gerinnung gebracht, Gelatine verflüssigt, Hirnbrei nicht geschwärzt, in Leberbouillon üppiges Wachstum unter Schaumbildung. Er ist für fast alle Tiere pathogen. Sein Toxin erzeugt ein blutig-seröses Ödem mit oder ohne kleine Gasblasen.

Ein selten vorkommender Erreger des Gasödems ist *Bacillus histolyticus*. Er ist ein schlankes, kleines, bewegliches Stäbchen mit ovalen mittel oder endständigen Sporen od. a. Kapseln. In jungen Kulturen ist er grampositiv in älteren gramnegativ. Seine Kolonien auf der Blutplatte entwickeln sich langsam, sie sind sehr klein farblos, in den Nährboden eingesunken und von einem zarten hamolytischen Hof umgeben. In Leberbouillon üppiges Wachstum ohne Schaumbildung. Er ist für Kaninchen, Mäuse, Meerschweinchen, Ratten pathogen. Sein Toxin löst das Gewebe auf und verwandelt alles in eine blutige Flüssigkeit. Ganze Körperteile fließen nach Auflösung der Haut als du klotzter Saft ab.

Häufig werden nicht nur mehrere Typen der beschriebenen Anaerobier gleichzeitig in dem Untersuchungsmaterial aus den infizierten Wunden gefunden, sondern neben den pathogenen auch apathogene Arten wie Bacillen der Putrificusgruppe die, obgleich für sich allein unschädlich, die toxische Wirkung der pathogenen Arten teil wehr verstärken teils abschwächen können.

Die Vertreter der Putrificusgruppe weisen untereinander wesentliche Unterschiede in ihrem morphologischen und biologischen Verhalten auf. Sie sind teils beweglich, teils unbeweglich meist peritrich begeißelt; neben grampositiven finden sich gramnegative Arten, auch bezüglich der Sporenbildung zeigen sie Differenzen. Einzelne Arten bilden Sporen, die den Bacillus an der Stelle ihres Sitzes aufstreifen und ihm dadurch das Aussehen eines Uhrzeigers geben (Uhrzeigerbacillen nach

Pfeiffer und Bessau) Allen gemeinsam ist die Fähigkeit, Eiweiß unter Faulnis zu zersetzen. Hirnbrei wird infolgedessen schwarzgrünlich verfarbt und allmählich in eine stinkige Masse verwandelt. Auf allen Nährböden rufen sie starke Gasbildung und intensiven Fäulnisgestank hervor. Sie verflüssigen Serum, koagulieren und peptonisieren die Milch. Sie sind wenig pathogen für Meerschweinchen, bei denen sie nur lokale Infiltrate erzeugen.

Die gynakologischen Gasödemie des Menschen entstehen fast ausschließlich durch Infektion mit *Bacillus Welch-Fränkel*, der zu den normalen Bewohnern der menschlichen Vagina gehört. Die Isolierung der einzelnen Arten begegnet nicht selten erheblichen Schwierigkeiten.

Als Untersuchungsmaterial für die bakteriologische Diagnose dient das beim Gasbrand matschig oder zunderig zerfallene Muskelgewebe, das bei längerem Transport zweckmäßig in hoch geschichteten Agar versenkt werden kann. Das Muskelstückchen wird mit etwas NaCl-Lösung im Mörser verrieben. Aus einer fleischwasserartige trübe Flüssigkeit entsteht. Diese wird im mit Methylenblau und nach Gram gefärbten Präparat sowie im hängenden Tropfen oder Dunkelfeld untersucht. Man erhält so Aufschluß über die Menge, Art und Beweglichkeit der Bakterien. Dann werden von der Gewebeflüssigkeit eventuell nach Verdünnung anaerobe Kulturen in hochgefüllten Agarröhrchen ohne und mit 0,5% Traubenzucker und auf Blutagar oder *Zisslerschen* Traubenzucker Blutagarplatten angelegt. Die Prüfung der Kulturen erfolgt nachdem sie 24 Stunden bei 37° und wenn nötig noch ein bis zwei Tage bei Zimmertemperatur gestanden haben. Isolierte Kolonien werden abgestochen in anaerobe Bouillon und zur Erzielung von Reinkulturen auf Blutplatten mit und ohne Traubenzucker verimpft. Ferner werden Leber Bouillonröhrchen mit dem Untersuchungsmaterial beimpft. Nachdem reichliche Sporenentwicklung festgestellt ist, werden die Kulturen acht Minuten lang im Wasserbad auf 80° zur Abtötung der vegetativen Formen erwärmt und dann auf Blutplatten überimpft. Die gezüchteten Reinkulturen werden durch Überimpfung auf Bouillon, Milch, Gelatine, Hirnbrei und durch Tierversuch identifiziert.

Ferner werden Muskelstückchen direkt oder nach Verreiben in Kochsalzlösung auf Meerschweinchen und Kanin

chen subcutan verimpft. Führt die Infektion zum Tode der Versuchstiere so wird die Sektion sobald als möglich vorgenommen. Es empfiehlt sich die Tiere kurz vor Ablauf der Infektion zu töten. Das Wundsekret der Impfstelle und Exsudat der Banchhöhle werden möglichst entfernt von der Impfstelle werden mikroskopisch und kulturell untersucht. Auch vom Herzblut werden Kulturen angelegt. In den mit Methylenblau und nach Gram gefärbten Ausstrichpräparaten findet man die Bacillen oft in dichten Schwärmen zusammenliegend. Ferner werden Kulturen unter anaeroben Bedingungen angelegt (* o). Die gezüchteten Kulturen werden auf ihre morphologischen funktionellen (Gramfärbung Beweglichkeit Sporen Geißelbildung) und kulturellen Eigenschaften geprüft und auf Meerschweinchen und Kaninchen überimpft.

Rotz. Der Erreger von Rotz ist der *Bacillus malleus*. Er findet sich in den Pusteln der multiplen Abscessen der Haut und Muskulatur im Nasensekret. Er ist mikroskopisch kulturell und durch Tierversuch nachweisbar.

Die Rotzbacillen sind kleine, weiße, stäbchenförmige unbewegliche Stäbchen; sie liegen häufig einzeln oder paarweise zusammen und bilden keine Sporen. Sie färben sich mit den gewöhnlichen Farbstoffen und sind gramnegativ. Bei Färbung mit Löfflers Methylenblau erscheint das Präparat häufig nicht gleichmäßig gefärbt sondern kommt ähnlich bei Hothier und Tuberkelbacillen. Die Rotzbacillen und Acetabacillen wachsen am besten auf Nährboden von neutraler oder höchstens schwach alkalischer Reaktion. Auf Glycerinagar (1 bis 3%) entwickeln sie sich zu kleinen grauen Anfängen durchscheinenden Kolonien die allmählich konfluieren und schließlich einen zähflüssigen Kulturrasen bilden. Sehr charakteristisch ist das Wachstum auf Kartoffeln. Nach zweitägiger Bebrütung zeigt sich ein dünner, gelblicher Belag, der nach einer Woche bräunlich wird und von einer grünlich schimmernen Zone umgeben ist.

Als Versuchstier benutzt man das Meerschweinchen dem das verdächtige Material in der Medianlinie oberhalb der Blase in die Bauchhöhle gespritzt wird. Nach zwei bis drei Tagen zeigt sich eine Schwellung des Hodens als charakteristisches Symptom einer gelungenen Rotzübertragung. Der Hoden liegt außerhalb des Leibes und ist sehr empfindlich. Aus dem erkrankten Hoden werden Kulturen angelegt. Die Rotzbacillen werden durch spezifische Immunglutinierung zu einer teigigen Infiltration an der Injektionsstelle nach ungetrockneten

Tagen bildet sich daraus ein Geschwür die benachbarten Lymphdrüsen vergrößern. Bei der Sektion finden sich Rotzotmotchen in der Mils und Leber und in den Lungen.

Der Milzbrandkarbunkel (*Pustula maligna*) wird durch Infektion mit *Anthraxbacillen* hervorgerufen. Als Untersuchungsmaterial dient aus den tiefen Partien der verdächtigen Pustel entnommener Gewebssaft. Der seröse Inhalt der Pustel ist frei von Bacillen sie liegen namentlich in den äußeren Teilen des Coriums um den Papillarkörper. Es werden Präparate mit verdünntem Methylenblau nach *Gram* und einer Methode die zur Darstellung der Kapseln dient gefärbt. Die mikroskopische Untersuchung ergibt jedoch meist nur kurze Zeit nach der Entstehung des Karbunkels ein positives Resultat später gelingt der Nachweis des Krankheitserregers nur durch die Kultur und den Tierversuch. Aber auch diese beiden Methoden können versagen. Es werden mit dem Gewebssaft Agarplatten ausgestrichen. Nach 24stündigem Wachstum finden sich die charakteristischen Kolonien der *Anthraxbacillen* daneben kommen häufig *Staphylokokken* zur Entwicklung. Ferner wird das Untersuchungsmaterial einer weißen Maus in eine Hauttasche oberhalb der Schwanzwurzel eingepflegt. Auch die beim Züchtungsverfahren zur Entwicklung gekommenen Bacillen werden durch Tierversuch identifiziert.

Die *Anthraxbacillen* (Tafel XXIII Fig. 3) sind glasbelle, zylindrische, unbewegliche Stäbchen mit abgerundeten Enden. Ihre Länge ist wechselnd, in Kulturen erscheinen sie erheblich größer als im tierischen Organismus. Sie färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und sind nach *Gram* positiv. Im gefärbten Präparat pflegen die Stäbchen an ihren Enden eine leicht kolbenförmige Anschwellung und gleichzeitig eine tellerförmige Vertiefung zu zeigen so daß, wenn zwei Stäbchen aneinanderliegen, an der Berührungsstelle eine Lücke entsteht (Bambusform). Im Grampräparat sind sie oft nicht gleichmäßig gefärbt und erscheinen dann eigentümlich gekornt. Im Tierkörper bilden die Milzbrandbacillen Kapseln, die fast stets schon im Methylenblaupräparat deutlich nachweisbar sind. Bei Färbung mit alten Lösungen sind sie rotlich gefärbt.

Die Milzbrandbacillen bilden bei Anwesenheit von freiem O und bei Temperaturen über 18°C in Kulturen mittelständige Sporen.

Sie wachsen auf allen gebräuchlichen Nährböden auf Agar und Gelatine entwickeln sie sich zu sehr charakteristischen Kolonien. Man sieht bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung, wie von einem Zentrum, das aus einem undurchsichtigen Fadengewebe zusammengesetzt ist, zahl-

reiche geschlangelte Ausläufer ausgehen die den Kolonien ein mahnenartiges Aussehen verleihen. Die Bouillon wird nicht in toto getrübt, sondern läßt einen Bodensatz erkennen. In der Gelatineschikultur findet das Wachstum dem Impfstich entlang statt unter Bildung harter baumartiger Verzweigungen. Die Gelatine wird verflüssigt, Milch zur Gerinnung gebracht.

Zum Tierversuch finden für diagnostische Zwecke weiße Mäuse und Meerschweinchen Verwendung. Bei subcutaner Impfung gehen die Tiere nach einem bis drei Tagen an Milzbrandsepticämie zugrunde. Bei der Sektion findet man die Milz stark vergrößert; die Bacillen sind im Herzblut nur in geringer Zahl, dagegen in den Capillaren aller Organe besonders Milz und Leber in großer Menge nachweisbar und zeigen im mikroskopischen Präparat die charakteristischen Kapseln.

Differentialdiagnostisch kommen die Gasödembacillen in Betracht, die sich durch ihre Beweglichkeit, ihr streng anaerobes Wachstum und ihr Verhalten im Tierversuch von den Milzbrandbacillen unterscheiden. Von den milzbrandähnliche Kolonien bildenden Saprophyten (Kartoffeln Wurzel Heubacillen) sind die Anthraxbacillen durch die Kapselbildung und vor allem durch ihr Verhalten im Tierversuch zu unterscheiden. Auch die genannten Saprophyten töten bisweilen weiß Mäuse und Meerschweinchen, finden sich aber bei der Sektion niemals im Blut und in den Organen der Tiere sondern immer nur an der Impfstelle.

Aktinomykose (Tafel XXII Fig. 3) Der Eiter wird zunächst makroskopisch auf das Vorhandensein von Aktinomyceskörnern (vgl. Seite 30) durchmustert. Sie werden frisch untersucht (vgl. Seite 28) und nach Verreiben auf dem Deckglas nach Gram gefärbt. Auch aus dem Eiter werden Grampräparate hergestellt (vgl. S. 54).

Tetanusbacillen (Tafel XXIII Fig. 1) Die Tetanusbacillen finden sich im Sekret infizierter Wunden sie sind stets so spärlich vorhanden daß ihr mikroskopischer Nachweis nicht gelingt. Auch das Kulturverfahren ergibt oft ein negatives Resultat. Viel häufiger ist der Tierversuch erfolgreich. Man benutzt hierzu Wundsekret mit dem ein kleiner Holzsplitter getränkt wird Granulationsgewebe oder den in der Wunde aufgefundenen Fremdkörper und impft weiße Mäuse an der Schwanzwurzel oder Meerschweinchen in eine Hauttasche an einem Hintersehenkel. Sind die geimpften Tiere nach fünf Tagen noch ohne Anzeichen von Tetanus so ist das Resultat als negativ zu betrachten. Der positive Ausfall des Tierexperimentes genügt für die Diagnose der Reinzüchtung der Krankheitserreger bedarf es nicht. In späteren Stadien der Er

krankung ist die Diagnose auch durch Nachweis des im Blute kreisenden Toxins zu stellen. Nach subcutaner Überimpfung von 1 bis 2 cm^3 Blut entwickelt sich bei Mäusen typischer Starrkrampf (s. u.)

Die Tetanusbacillen sind schwach bewegliche, schlankte Stäbchen, die in den aus Reinkulturen gewonnenen Präparaten teils einzeln liegen, teils zu mehr oder weniger langen Fäden angeordnet sind. Sie bilden bei Zimmertemperatur nach acht bis zehn Tagen, bei Bruttemperatur nach 24 bis 30 Stunden runde, endständige Sporen (Köpfchensporen), die ihnen ein trommelschlegelartiges Aussehen verleihen. Die Tetanusbacillen färben sich leicht mit verdünnten Anilinfarbstoffen und nach der Gramschen Methode.

Kulturelles Verhalten. Die Tetanusbacillen sind anaerobe Bakterien, sie wachsen bei Luftabschluß auf allen gebräuchlichen Nährböden, besonders wenn ihnen Traubenzucker (3%) zugesetzt ist. In Symbiose mit aeroben Bakterien entwickeln sie sich auch bei O-Anwesenheit.

Züchtung von Reinkulturen nach Kitasato. Das Untersuchungsmaterial wird auf Agarröhrchen überimpft. Diese bleiben ein bis zwei Tage bei Bruttemperatur es finden sich dann auf ihnen neben anderen Bakterien auch sporentragende Tetanusbacillen. Die Mischkultur wird nun circa eine Stunde im Wasserbad auf 80° erhitzt, wobei die anderen Bakterien abgetötet werden, während die widerstandsfähigen Tetanussporen unentwickelt bleiben. Mit diesen werden nach einer der üblichen Methoden (vgl. Kapitel XII) anaerobe Kulturen angelegt. Auf Gelatine bilden sich nach fünfzigem Wachstum kleine Kolonien mit strahligen Ausläufern. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf Agar geht die Entwicklung rascher vor sich. Die zarten Kolonien erscheinen bei schwacher Vergrößerung betrachtet als ein Gewirr feiner Fädchen. Gutes Wachstum zeigen sie in Tarraxibouillon. In Bozillon bilden sie Toxine, die schon in sehr kleinen Dosen die Versuchstiere töten.

Tierversuch. Die empfänglichsten Versuchstiere sind weiße Mäuse und Meerschweinchen, denen man mit dem Untersuchungsmaterial imprägnierte Holztückchen o. dgl. in eine Hauttasche einführt. Die ersten Tetanussymptome treten in den Muskelgruppen nahe der Impfstelle auf, die Tiere gehen mit gestreckten Hinterbeinen (in Robbenstellung) zugrunde. — Die Tetanusbacillen sind nur an der Impfstelle mikroskopisch und kulturell nachweisbar. Die Tiere werden durch das von den Bacillen secernierte Toxin getötet.

Ulcus molle.

Erreger des weichen Schankers ist der *Ducrey-Krefting Unnasche Streptobacillus*.

Ausstrichpräparate, die aus dem zerfallenen Gewebe unter dem Rand des Geschwürs oder vom Sekret aus seiner Tiefe hergestellt werden, färbt man mit Löfflers Methyleneblau, Boraxmethylenblau oder polychromem Methylenblau.

Bei positivem Befunde der aber keineswegs regelmäßig erhoben wird, zeichnen sich neben anderen Mikroorganismen kurze gedrungene, an den Enden abgerundete häufig polgefärbte hantelförmige Stäbchen, die in Gruppen zu Paaren oder auch einzeln extra und intracellulär liegen. Daneben sieht man Stäbchen mit zentralem ungefärbtem Raum sogenannte Schiffchenformen. Nach der *Graesschen* Methode verhalten sie sich negativ.

Charakteristisch ist das Bild, das sie in Schnitten aus den Randpartien des exzidierten weichen Schankers darbieten. Hier liegen die Bacillen in oft sehr langen parallelen Ketten stets extracellulär in den Lymphspalten des Gewebes überall ein wenig über die Grenze des absterbenden Gewebes hinaus in das noch lebende Plasmagewebe hineingehend.

(Färbung der Schnitte vgl. Kapitel XII.)

Die *Ulcer-molle-Bacillen* wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden nicht. Ihre Züchtung gelingt nur unter aus dem Eiter geschlossener Geschwüre (Initialpostels), Bubonen und aus Impfschankern auf Blutagarröhrchen, wobei darauf zu achten ist, daß auch das Kondenswasser beimpft wird. In dem sich die Bacillen besonders gut entwickeln (zwei Teile verflüssigter auf 45 bis 50° abgekühlter Agar vermischt mit einem Teil Kaninchen- oder Menschenblut) und auf nicht koaguliertem Blutserum. Nach 48stündigem Verweilen bei 37° haben sich stecknadelkopfgroße, dunkelgraue glänzende, runde Kolonien entwickelt, die sich mit der Platinnadel auf der Oberfläche des Nährbodens in toto verschleiben und abheben lassen. Die Kolonien bestehen aus polymorphen Stäbchen, die häufig reihenweise gelagert sind und im hängenden Tropfen unbeweglich erscheinen.

Zum Nachweis der *Dacryococcus* Bacillen bedient man sich auch der Inokulationsmethode in die menschliche Haut. Als Impfstelle wählt man die seitliche Bauchgegend des Patienten selbst. Es werden mehrere ganz oberflächliche Impfspritze gemacht, in die das Sekret des zu untersuchenden Geschwüres verrieben wird. Nach zwei bis vier Tagen kommt es zur Entwicklung des Impfschankers, in dessen Sekret die Bacillen meist in großer Menge nachweisbar sind.

Der Nachweis von Streptobacillen ist wichtig zur Unterscheidung von淋病ähnlichen Geschwüren nichtvenerealer Natur (*Ulcer simplex* Buschke). — Bei dem seltenen *Ulcer acutum vulvae* (*Lipschütz*) finden sich im Sekretausstrich zahlreiche grampositive Stäbchen (*Bacillus crassus*), die anaerob wachsen.

Hauttuberkulose.

Bei den tuberkulösen Hauterkrankungen kommt der bakteriologischen Untersuchung in diagnostischer Be-

ziehung keine Bedeutung zu da hier die Bacillen meist so spärlich vorhanden sind, daß ihr mikroskopischer Nachweis in der Regel mißlingt. Am ehesten werden sie noch in Ausstrichpräparaten aus dem Sekret tuberkulöser Geschwüre aufgefunden, jedoch ist differentialdiagnostisch in Betracht zu ziehen daß auf der Haut nicht selten auch andere säurefeste Stäbchen angetroffen werden.

Bei *Lupus vulgaris* finden sich Tuberkelbacillen häufig bei *Tuberculosis cutis verrucosa* vereinzelt in Schnittpräparaten.

Sicherer als durch mikroskopische Untersuchung gelingt der Nachweis der Bacillen mit Hilfe des Tierexperimentes (subcutane Impfung von Meerschweinchen)

Durch pathogene Pilze hervorgerufene Hautkrankheiten (Dermatomykosen)

Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Zum Nachweis der Erreger werden vom Rande der verdächtigen Hautstellen Schuppen durch Abkratzen mit einem kleinen scharfen Löffel oder Skalpells entnommen und auf einem Objektträger oder in einer Petrischale aufgefangen.

Haare werden mit der Wimpernpinzette angezogen, wobei man häufig schon mit bloßem Auge eine weiße, aufgequollene Manchette erkennt. Ganz oder teilweise abgebrochene Haare, wie bei *Mikrosporie* lassen sich leicht mit dem scharfen Löffel entfernen. Nagelmateriel gewinnt man durch Abschaben mit dem scharfen Löffel oder mit der Schere

Mikroskopische Untersuchung

Für diagnostische Zwecke genügt meist die Untersuchung im ungefärbten Präparat Haare und Schuppen können zunächst in einer Mischung von Alkohol und Äther \bar{u} entfettet werden dann werden sie in 20- bis 30%iger Natron oder Kalilauge unter leichtem Erwärmen verrieben und nachdem die Hautzellen aufgequollen und aufgeheilt sind zuerst bei schwacher dann bei mittelstarker Vergrößerung (zirka 300fach) untersucht. Der Nachweis des *Erythrasma*erregers ist nur mit Ölimmersion möglich

Eine gute Aufhellung des Präparates ist erforderlich, weil sonst leicht Verwechslungen mit pilzhähnlichen Gebilden vorkommen, z. B. elastischen Fasern, hellen, fadenartigen netzförmigen Bildungen, die zwischen den Epithelzellen liegen und Kunstprodukte sind („Pseudopilze“). Pilzfäden sind im Gegensatz zu den Randern von Epithelzellen doppelt konturiert und stark lichtbrechend. Ferner sind die in kleinen Haufen liegenden sogenannten Keratohyalinkörper zu beachten besonders bei Untersuchung der Haut am Handteller und Fußsohle. Ihre Kleinheit und meist intracelluläre Lage unterscheidet sie von Pilzsporen. Öfter vorkommende banale Schimmelpilze sind an der Form, Breite und regelmäßigen Begrenzung ihrer Hyphen zu erkennen. Soorpilze an der mannbeerartigen Anordnung ihrer Sporen. Die Sporen der pathogenen Schimmelpilze bilden Ketten.

Die Untersuchung im gefärbten Präparat kommt für praktische Zwecke selten in Betracht, sie ist erforderlich bei Erythrasma (vgl. S. 508).

Fixation. Haare und Schnuppen werden auf dem Objektträger in Alkohol und Äther aa entfettet. Nach Abdunstung derselben träufelt man Eisessig auf das Untersuchungsmaterial zerquetscht es zwischen zwei Objektträgern und läßt den Eisessig über kleiner Flamme verdunsten. Färbemethoden vgl. Kap. XII.

Kulturverfahren. Als Nährboden bewährt sich am besten das Sabouraudsche Milieu d'épreuve bestehend aus Maltose brute*) 40 Peptone granulee*) 10 Agar 18 Aqua dest. ad 1000. Einen ähnlichen mit deutschen Bestandteilen hergestellten Nährboden hat Grütz angegeben: Pepton (Knoll) 5 Nervinamalz (Christiansen Flensburg) 80 1 8%igen Agar 1000. Auch Bierwürzagar stellt einen brauchbaren Nährboden dar. Auf dem Sabouraud und Grütz Agar wachsen die meisten pathogenen Pilze in charakteristischen Formen, wodurch häufig schon makroskopisch ihre Identifizierung möglich ist.

Das Untersuchungsmaterial wird vor der Verimpfung mit steriler Schere oder durch Zerpupfen mit Nadeln möglichst zerkleinert. Auf die Oberfläche des Nährbodens werden mehrere kleine Stückchen in möglichst großen Abständen voneinander gelegt ohne den Nährboden zu verletzen. Die beimpften Röhrrchen werden bei

*) Zu beziehen von Maison Cogit Paris, Boulevard St. Michel 20

Zimmertemperatur im Hellen (nicht im Sonnenlicht) gehalten. Tritt in den ersten Tagen Verunreinigung der Kultur durch Wachstum von Schimmelpilzen oder Hefen ein dann sind die sterilgebliebenen Schuppen sofort auf einen neuen Nährboden zu übertragen. Die Entwicklung der Kulturen beginnt nach zirka 2 Wochen

Es bilden sich glatte oder eigentümlich gewundene Kolonien mit radiären Ausläufern und knopfförmig vorspringendem oder auch kraterförmig eingesenktem Zentrum. Die Farbe ist bei den einzelnen Arten wechselnd weißlich, gelblich, auch grünlich rötlich oder violett.

In älteren Kulturen auf kohlenhydratreichen Nährböden zeigen sich Degenerationserscheinungen *Pleomorphismus*. Dabei nehmen die Kolonien faumige Beschaffenheit an und bestehen nunmehr aus sterilen Hyphen.

Züchtung „in situ“ (Mikrokultur). Diese bietet den Vorteil, daß man die Kultur während des Wachstums laufend beobachten kann. An Stelle des ursprünglichen *Plattischen* Verfahrens empfiehlt sich folgendes Vorgehen. Man bringt einen hohlgeschliffenen sterilen Objektträger in eine sterile Petrischale auf eine mit Aqua dest. gut angefeuchtete Zellstoffunterlage. In die Höhlung des Objektträgers tropft man eine kleine Menge des durch Erhitzen verflüssigten Nährbodens, schließt die Schale bis zum Erstarren und impft dann auf die Mitte des Nährmediums eine Spur des Untersuchungsmaterials, ohne mit einem Deckglas zu bedecken. Die Entwicklung dieser Kleinkultur in der feuchten Kammer läßt sich täglich makroskopisch und mikroskopisch kontrollieren. Auf dem Höhepunkt des Wachstums kann man auf Röhrchen weiterverimpfen.

Tierimpfung Kulturstückchen werden vom Rande der Kultur abgeschnitten zwischen Sandpapier zerrieben und in die rasierte Haut des Tieres eingerieben, ohne daß es blutet. Die geimpfte Stelle erscheint erst gerötet dann nimmt die Haut wieder ihre normale Farbe an. Erst am fünften bis achten Tage zeigt sich dann gewöhnlich die durch den Pilz hervorgerufene Reaktion (Schuppung Krustenbildung) die oft nur kurze Zeit bestehen bleibt.

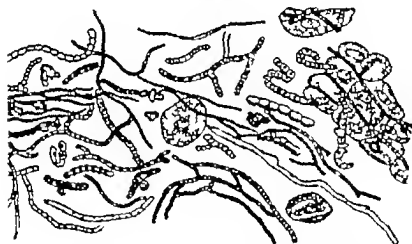
Favus

Erreger des menschlichen Favus ist in erster Linie *Achorion Schoenleinii*. Sein Nachweis gelingt leicht sobald die charakteristischen Effloreszenzen die *Scutula* vorhanden sind. Sie sind schwefelgelbe meist von einem Haar durchbohrte an der Oberfläche schüsselförmig gedellte kompakte Gebilde, die in die Haut eingesenkt

sind. Sie werden isoliert indem man die sie anfangs noch bedeckende Hornschicht einreißt und sie mit einer Myrtenblattsonde aus der Haut heraushebt. — Treten die Scutula nicht deutlich hervor so kann man sie durch Betupfen der Haut mit Alkohol besser sichtbar machen.

Die Untersuchung erfolgt im ungefärbten Präparat. Dabei zeigt sich daß das Scutulum aus einer feinkörnigen Masse besteht in der zentral dichtgedrängt die abgeschnürten doppelt konturierten oval rund oder

Fig. 60



Favuspilze (nach Lasser in Eulenburgs Realenzyklopädie)

rechteckig gestalteten Sporen liegen peripher die im allgemeinen radlär angeordneten Mycelfäden. Diese erscheinen als sehr verschieden breite vielfach septierte Schläuche, die an den Enden manchmal zweigabelig geteilt sind und an den Spitzen keulenförmige Anschwellungen zeigen. Die Fäden knospen auch seitlich und schnüren die Seitenhyphen beinahe rechtwinklig ab.

Ihre charakteristische Form bewahren die Scutula nur so lange sie von der Hornschicht bedeckt sind. später entsteht eine Borke.

Die zweite wesentliche Fundstätte für die Favuspilze bildet das Haar. Sie sind auch hier bereits im ungefärbten Präparat deutlich sichtbar. Man findet in der Längsrichtung des Haares angeordnete Mycelketten, die meist aus rechteckigen Gliedern bestehen. Daneben sieht man zahlreiche größere oder kleinere Luftblasen. Die Pilzelemente entwickeln sich in der inneren Wurzelscheide und dringen auch in den Haarschaft ein, ohne das Haar zu zersplittern. Sie sind nicht nur im extrafollikulären Teil des Haares, sondern bis tief in den Bulbus hinein zu finden.

Schwieriger ist der Nachweis des Krankheitserregers beim Körperfavus in den Epidermisschuppen, in denen die Pilzelemente meist sehr spärlich vorhanden sind. Im ungefärbten Präparat kommen sie in der Regel nicht zu Gesicht; man bedient sich zu ihrer Darstellung des Färbeverfahrens (vgl. Färbemethoden).

Die Untersuchung der Nägel bei der Onychomycosis favosa erfolgt ebenfalls im gefärbten Präparat. Lieblingssitz der Pilzelemente (Sporen und versporte Mycelfäden aus kurzen Einzelzylindern zusammengesetzt) ist das Nagelbett.

Kulturverfahren. Die Kolonien sind nach acht Tagen etwa stecknadelkopfgroß, nach drei bis vier Wochen vollkommen entwickelt. Das mikroskopische Aussehen der Kulturen wechselt außerordentlich, je nach Art des vorliegenden Pilzstammes.

Neben *Achorion Schoelei* kommen das *Achorion Quinckeanaum*, *gypseum violaceum*, *gallinae*, die tierischer Herkunft sind, auch beim Menschen gelegentlich vor. Die Kultur des *Achorion Schoelei* erscheint als Konvolut von hellbraun gefärbten, wachsähnlichen, feinen Wulsten, die sich nach dem Rande zu abflachen und manchmal in sich zurücklaufen, so daß napfchenähnliche Bildungen entstehen.

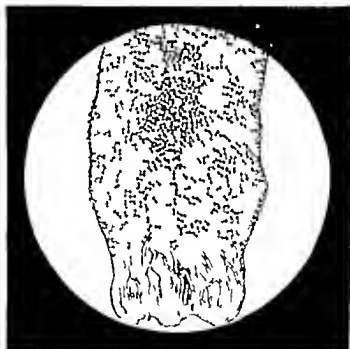
Tierversuch. Zur Anstellung des Tierexperimentes benutzt man Mäuse, die an Favus erkranken, wenn das Untersuchungsmaterial in die Haut an der Schwanzwurzel eingerieben wird. Der negative Ausfall des Versuches spricht nicht gegen die Diagnose Favus, da nicht alle vom Menschen stammenden Favuspilze für Mäuse pathogen sind. Auch nach Verfütterung von Favuskulturen entstehen Scutula am Kopf der grauen Mäuse.

Mikrosporie

Die Mikrosporie wird hervorgerufen durch eine kleine spongiöse Pilzart, deren verbreitetster Vertreter das Mikrosporon Audouini ist. Es handelt sich um eine Erkrankung

des Kindesalters die fast ausschließlich die Kopfhaut befällt. In den Krankheitsherden die als kreisrunde scharf begrenzte wie mit Kalk bestreute Flecke erscheinen brechen die den Haarboden wenig überragenden Haar

Fig 61



Mikrosporon Audouinii Haar mit Sporenpanser Mycetium-Quaste (unten)
Nach Braks und Alexander

stümpfe beim Epilieren dicht oberhalb des Hautniveaus ab wobei die Wurzel stecken bleibt. Der silbergraue Glanz rührt wie die Betrachtung mit der Lupe ergibt von einer Manschette her welche den Haarstumpf überzieht. Diese erweist sich bei mikroskopischer Untersuchung als fast vollkommen aus dicht gedrängt liegenden kleinen Ekto-

sporen bestehend. Seltener findet man Mycelien die in das Innere der Haare eingedrungen sind nach dem Bulbus zu bilden sie ein charakteristisches pinselförmiges Geflecht die sog. *Adamisonische Quaste*. Reichlicher findet man Pilzfäden in Hautschuppen (Fig. 61)

Züchtung ist bei dem leichten mikroskopischen Nachweis des Pilzes aus diagnostischen Gründen nicht erforderlich sondern nur wenn eine genaue Bestimmung des vorliegenden Pilzstammes (z. B. bei Epidemien) erwünscht ist. Das *Mikrosporon Andouini* bildet weiße etwas flaumige Kolonien von sternförmigem Aussehen. Mikroskopisch findet man zahlreiche zum Teil verschlungene Mycelien auch in Gewebe und Kammsinkenform mit keulenförmigen Endanschwellungen. Neben diesem kommen eine Reihe animaler Stämme (von Hund Katze usw.) auch beim Menschen vor

Trichophytie.

Die durch Trichophytonpilze hervorgerufenen Erkrankungen betreffen die Haut und deren Anhangsgebilde (Kopfhaare Barthaare Nägel) und äußern sich in mannigfachen klinischen Formen (*Herpes tonsurans* Kerion Sycosis Interdigital und Nagelmycose). Außerdem kommen wie auch bei anderen Mycosen (*Favus Mikrosporie* u. a.) gelegentlich Allgemeinexantheme — Trichophytide — zur Beobachtung wobei Pilze aus dem strömenden Blut gezüchtet werden können.

Bei den oberflächlichen (squamösen) Formen gelingt der Pilznachweis leicht im Nativpräparat von Schuppen der Randzone bei der tiefen Form die häufig durch animale Stämme verursacht wird findet man oft im Eiter keine Pilzelemente so daß man Kulturen (durch Verimpfen von Eiter aus der Tiefe des Herdes) anlegen muß

Als Erreger kommen verschiedene Stämme humanen und tierischen Ursprungs in Betracht die *Sabouraud* nach ihrer Beziehung zu den Haaren in *Endothrix* *Ectothrix* und *Neo-Endothrix* Arten eingeteilt hat

Bei der Endothrixgruppe findet man die Haare durchsetzt von zahlreichen Mycelfäden die rosenkranzartig versporigt sind. Die Konidien sind größer als bei Mikrosporie, rund oder abgeplattet und füllen das Haar aus wie einen Sack voller Nüsse. Hauptvertreter dieser Gruppe

Fig 63



Trichophyte Schuppen

ist das Trichophyton craterforme. Seine Kultur zeigt ein kraterförmiges Zentrum mit ringförmigem Wall die Farbe ist anfangs weiß später mehr gelblich gleichzeitig wird die zunächst flaumige Oberfläche trocken pulverig. Als weitere Arten unterscheidet man das Trichophyton acuminatum violaceum (mit dunkelviolettem Farbton) glabrum u. a. m.

Die Neo-Endothrix Gruppe befällt nicht nur die Haare sondern bildet auch um diese herum mantelförmige Auflagerungen von Mycelien. Dazu gehört als verbreitetstes das Trichophyton cerebriforme dessen Kultur hirnrinden förmiges Aussehen zeigt

Fig. 63.



Trichophytie Haar

Die Ektothrixarten findet man in Form von Sporen haufen und septierten Mycellen sowohl im Innern der Haare als auch in deren Umgebung. Man unterscheidet groß und kleinsporige Varietäten von denen erstere teilweise nach Art der Favuspilze wachsen. Die Trichophyton ectothrix microides-Gruppe erscheint in der Kultur wie mit Gips bepulvert und wird schnell pleomorph

Anhang

Epidermophyten

Die Epidermophyten die erst in neuerer Zeit von der Trichophytie abgegrenzt worden sind unterscheiden sich klinisch von dieser durch den stets oberflächlichen Sitz und das Freibleiben der Haare. Hauptform ist das fast ausschließlich in der Genitocruralgegend lokalisierte Ekzema marginatum welches durch das Epidermophyton inguinale hervorgerufen wird. Die Pilzelemente finden sich in den tiefer gelegenen Hautschuppen in Gestalt zahlreicher septierter stark verzweigter Fäden diese zeigen vielfach Mycelversporing so daß man perlschnurartig angeordnete runde längliche und rechteckige Sporen erkennt

Bei Züchtung auf Maltoseagar entwickeln sich zu nächst grau weißliche Erhebungen mit feinen Ausläufern in etwa zwei Wochen bilden sich unregelmäßige Windungen mit grünlicher oder mehr gelblicher Verfärbung. Es kommt rasch zu pleomorpher Entartung. Die in den Tropen vorkommenden Varietäten bilden roten Farbstoff

Die zweite Art betrifft eigenartige Affektionen an Händen und Füßen Ekzema mycoticum palmarum et plantarum, wobei man dyshidrotische squamöse und intertriginöse Formen beobachtet. Die Erreger finden sich im Bläscheninhalt bzw. in den Schuppensäumen der Krankheitsherde (selten in der Nagelplatte) in Form leicht gebogener nur teilweise septierter schlanker Fäden die ein dichtes Geflecht bilden. Epidermophyton interdigitale (identisch mit dem früher als Trichophyton Kaufmann-Wolf bezeichneten Pilz)

Ähnliche Hautveränderungen werden auch durch den Soorpilz (s. d.) hervorgerufen

Saprophyten

Pityriasis versicolor

Pityriasis versicolor wird durch Mikrosporon furfur hervorgerufen. Es findet sich ausschließlich in

der Hornschicht. In den Schuppen sind zahlreiche Pilzelemente in Form kurzer wenig verzweigter U förmig gekrümmter Fäden nachweisbar zwischen denen haufen förmig angeordnete runde, ovale oder auch eckige Sporen sichtbar sind

Das mikroskopische Bild ist so charakteristisch daß Kulturversuche zu diagnostischen Zwecken nicht erforderlich sind.

Die Züchtung der Pilze macht große Schwierigkeiten Vor Entnahme der Schuppen zur Züchtung wird die Hautstelle mit Sublimat desinfiziert mit Wasser abgespült und mit Ätheralkoholmischung betupft.

Erythrasma

Der Erreger des Erythrasma ist das *Mikrosporon minutissimum*. Es hat seine Wacherstätte in der Hornschicht der Haut Die Untersuchung erfolgt am besten nach Färbung der Schuppen nach *Bissosero* mit Öl immersion Die Pilzelemente zeichnen sich durch außerordentliche Zartheit aus Es finden sich lange, vielfach gewundene dicht septierte verzweigte Fäden die in ihrem Aussehen Streptotricheen gleichen in dichter Anordnung Zwischen den Mycelfäden sind zahlreiche runde und recht eckige Sporen gelagert die wegen ihrer Kleinheit leicht mit Kokken zu verwechseln sind

Die Züchtung des Pilzes ist bisher nicht gelungen.

Sporotrichose

Die Sporotrichose wird durch einen eigentümlichen Fadenpilz *Sporotrichon* hervorgerufen von dem man etwa zehn pathogene Arten kennt. Am häufigsten scheint das Sp *Beurmanni* zu sein. Der Pilz ist in den Krankheitsherden mikroskopisch nicht nachweisbar dagegen gelingt es leicht ihn aus dem Eiter geschlossener er

Nachweis der *Spirochaeta pallida*

Zum Nachweis der Spirochäten dienen Ausstrich- und Schnittpräparate sowie die Untersuchung im frischen Präparat. Der Tierversuch und die Züchtung der Spirochäten kommen für die Diagnose noch nicht in Betracht.

Die Spirochäten finden sich in allen Krankheitsprodukten der Syphilis am reichlichsten in Primäraffekten Papeln, Kondylomen und Bubonen sowie in den Organen hereditär-infektiver Foeten. In geringer Anzahl werden sie in den tertiär-syphilitischen Eruptionen gefunden. Im Gehirn von Paralytikern sind sie von *Neguchi* dargestellt worden, auch im kreisenden Blute ist ihr Nachweis mikroskopisch und durch Tierversuch geglückt.

Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Schanker und erodierte Papeln werden zunächst mit einem Wattebausch abgerieben, um das Oberflächensekret, das in der Regel nur wenige Spirochäten, aber viele andere Mikroorganismen enthält, zu entfernen. Blutungen müssen dabei vermieden werden. Sind bereits lokale Antiseptika angewandt worden, so ist die Chance, Spirochäten zu finden, geringer. Die Untersuchung ist dann erst vorzunehmen, nachdem 24 Stunden lang Umschläge mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht sind. Die erodierte Oberfläche wird mit einer Platinföe gerieben, bis helles Serum (Rein Serum) hervorquillt, das zur Untersuchung benutzt wird. Sehr leicht gewinnt man auch den Gewebssaft, wenn man die Papel oder den Schanker zwischen den Branchen einer Pinzette quetscht. Als besonders geeignetes Untersuchungsmaterial wird das durch Kratzen mit einem Platinspatel vom Rande der Erosion gewonnene Geschabe von *Hoffmann* empfohlen. Auch durch kleine *Bierache* Sanger, die auf die ulcerierte Stelle aufgesetzt werden, erhält man spirochätenreiches Serum. Beim Versagen dieser Methoden empfiehlt *Hoffmann* die Punktion des Infiltrates, grundes am besten flach vom Geschwürsrande her. Zahlreiche Spirochäten finden sich im den ausgepreßten Gewebssaft exzidiert Primäraffekte.

Von geschlossenen Efflorescenzen wird zunächst die Hornschicht unter Vermeidung von Blutungen mit einem Messer abgetragen und dann Gewebssaft von der Randzone gewonnen.

Aus Pusteln und Pemphigblasen wird der Gewebssaft nach Eröffnung der Blase vom Grunde derselben entnommen.

Bei Gummata wählt man das junge, noch lebensfähige Gewebe der Randzone zur Untersuchung.

Für die Gewinnung des Untersuchungsmaterials aus Drüsen gibt *Hoffmann* folgende Vorschrift:

Die Punktion wird mit einer 5 cm³ fassenden Rekordspritze vorgenommen, die mit einer gut passenden nicht zu engen Kanüle armiert ist. Man durchsticht unter Aufhebung einer Falte die Haut und geht dann in die zwischen zwei Fingern gefaßte und leicht angehobene Drüse in der Längsrichtung ein. Sich möglichst in der Rindensubstanz haltend, aspiriert man unter Verschiebung der Kanüle von verschiedenen Stellen der Drüse Gewebssaft und spritzt in eine Petrischale aus. Der Nachweis von Lymphocyten bei der Untersuchung zeigt, daß man tatsächlich Drüseninhalt erhalten hat.

Bei Verdacht auf Tonsillarschanker gewinnt man das Untersuchungsmaterial aus der Tiefe des Gewebes am besten in der Weise, daß man eine Glascapillare unter drehenden Bewegungen in die verdächtige Stelle der Tonsille einbohrt. Das so gewonnene Material wird auf einen Objektträger gebracht und nach Verreiben in etwas physiologischer Kochsalzlösung im Dunkelfeld untersucht.

Blut wird zur Untersuchung mittels Venenpunktion gewonnen. Man nimmt wenigstens 1 cm³ Blut und fängt es in der schnellsten Menge 0.5%iger Essigsäure auf. Das gelörte Blut wird zentrifugiert und das Sediment untersucht.

Herstellung gefärbter Präparate.

Zur Herstellung der Ausstrichpräparate benutzt man Objektträger, die mehrere Tage in einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Äther gelegen haben und sorgfältig geputzt sind. Man stellt von dem Reiserum Ausstrichpräparate oder dicke Tropfen nach der bei der Blutuntersuchung beschriebenen Methode her. Die Präparate werden durch 10 Minuten langes Einlegen in Methylalkohol oder durch Osmiumdämpfe fixiert.

In eine Doppelchale stellt man ein offenes Gläschchen, das 5 cm³ einer 1%igen Osmiumlösung und zehn Tropfen Essig enthält. Auf dieses Gläschchen werden die Objektträger gelegt und vor Beschädigung mit dem Untersuchungsmaterial zwei Minuten den Osmiumdämpfen ausgesetzt. Dann wird das Reiserum schnell auf der osmierten Seite des Objektträgers ausgestrichen und dieser noch leicht abwärts für ein bis zwei Minuten osmiert. Nachdem das Präparat an der Luft getrocknet ist, wird es auf eine Minute in eine ganz hellrote Kaliumpermanganatlösung gebracht, mit Wasser abgespült und zwischen Fließpapier getrocknet.

Von den zahlreichen Methoden zur Färbung der Spirochäten hat sich am besten die Färbung mit Giemsa-Lösung bewährt.

Die Färbedauer beträgt vier bis zwölf Stunden. Vor der Herausnahme des Präparates wird das Häutchen, das sich an der Oberfläche der Farblösung gebildet hat, mit Fließpapier entfernt. Darauf wird das Präparat mit Wasser abgespült, eventuell in 25%iger Tanninlösung differenziert und zwischen Fließpapier getrocknet (Tafel XXIV Fig. 1).

Untersucht man die Giemsa-Präparate im Dunkelfeld (Leuchtbildmethode Hoffmanns), so kommen mehr Spirochäten zu Gesicht als im Hellfeld. Die Präparate müssen sehr dünn ausgestrichen mit Osmium

fixiert und mit 25%iger Tanninlösung differenziert sein. Man erhält ein Leuchtbild wenn man den einschlebbaren Kondensor senkt und eine halbgelbe Mattscheibe zwischen Lichtquelle und Kondensor einschleibt.

Schnellfärbungsverfahren.

Das fixierte Präparat wird mit der verdünnten Giemsa-Lösung übergossen und bis zur Dampfbildung über kleiner Flamme erwärmt. Nach einer viertel Minute wird die Farblösung abgegossen. Diese Prozedur wird etwa viermal wiederholt, nur mit dem Unterschiede daß man das letzte Mal die Farblösung eine Minute einwirken läßt. Dann folgt ein kurzes Abwaschen in Wasser und Trocknen zwischen Fließpapier.

In einem gut gefärbten Giemsa-Präparat müssen die Spirochäten deutlich rot die Leukocyten tief schwarzrot sein erscheinen sie blau so ist die Färbung nicht gelungen. Beim Aufsuchen der Spirochäten durchmustert man in erster Linie die Gesichtsfelder die rote Blutkörperchen enthalten da die Parasiten oft gerade in der Nähe der roten Blutkörperchen angetroffen werden. Die Untersuchung erfolgt mit Ölimmersion.

Tuscheverfahren nach Burri (Tafel XXIV Fig 2)

Man bringt an das eine Ende eines Objektträgers einen kleinen Tropfen chinesischer Tusche (*Grübler* Leipzig) und vermischt hiermit einen Tropfen Reizserum dann streicht man das Gemisch mit der schmalen Kante eines Objektträgers in gleichmäßiger dünner Schicht über den Objektträger aus. Nachdem das Präparat getrocknet ist kann es sofort untersucht werden. Alle Formelemente erscheinen hell auf dunklem Grunde die Spirochäten treten deutlich hervor und sind leicht aufzufinden.

An Stelle der Tusche kann man auch 2%ige Kongorotlösung verwenden.

Untersuchung im frischen Präparat.

Am sichersten gelingt der Nachweis der Spirochäten im Dunkelfeld in dem die hellaufleuchtenden Mikroorganismen auf dunklem Untergrund erscheinen. Diese Methode

ist für diagnostische Zwecke der Untersuchung im gefärbten Präparat weit überlegen.

Die zur Dunkelfeldbeleuchtung erforderliche Apparatur läßt sich an jedem Mikroskop anbringen. An Stelle des Abwärtigen Beleuchtungsapparates wird der Spiegelkondensor in die Hülse eingeschoben oder der plattenförmige Kondensor auf den Objekttisch aufgelegt. In die Immersionslinse wird eine besondere Blende eingeschraubt. Zunächst wird mit einem schwachen Objektiv der Apparat zentriert, bis die auf der Oberfläche des Kondensors eingeritzten Kreise konzentrisch zur Gesichtsfeldblende liegen. Zwischen Kondensor und Objektträger kommt ein Tropfen Wasser oder Öl, auf das der Objektträger ohne daß Luftblasen entstehen aufgelegt wird. Zur Beleuchtung ist eine starke Lichtquelle erforderlich, die von Leitz und Zeiss jetzt in sehr handlicher Form geliefert wird.

Herstellung des Präparates Man tupft das mit der Pinzette gehaltene Deckglas auf das Reizserum auf und läßt es mit der beschichteten Fläche nach unten auf den Objektträger fallen auf den vorher ein Tropfen physiologischer NaCl-Lösung gebracht ist. Das Serum soll sich ohne Luftblasen zwischen Deckglas und Objektträger in möglichst dünner Schicht ausbreiten. Es sollen nur Objektträger und Deckgläser von bestimmter Dicke verwandt werden. (Objektträger von 1 mm Deckgläser von 0.17 mm Dicke ohne jeden Kratzer)

Untersuchung im Schnittpräparat.

Argentumpyridinmethode. Die einzubettenden Stücke dürfen nicht dicker als 2 mm sein

- 1 Fixieren in 10%iger Formalinlösung 24 Stunden.
- 2 Harten in 96%igem Alkohol 18 Stunden.
- 3 Waschen in Aqua dest. das mehrmals gewechselt wird, bis die Stücke zu Boden sinken.
- 4 Einbringen der Stücke in eine frisch bereitete Mischung von 90 cm³ 1 bis 1.5%iger Silbernitratlösung und 10 cm³ reinem Pyridin, die sich in einer dunklen, mit Glasstopfen verschlossenen Flasche befindet auf zwei bis drei Stunden bei Zimmertemperatur und dann noch auf weitere drei bis fünf Stunden bei 45 bis 50°.
- 5 Sehr rasches Waschen in Pyridinlösung (10:100)
- 6 Übergeben der Stücke mit der frisch bereiteten Reduktionsflüssigkeit von folgender Zusammensetzung:
90 cm³ 4%iger Pyrogalluslösung werden mit 10 cm³ reinem Aceton vermischt; zu 85 cm³ dieser Mischung werden 15 cm³ Formalin zugegeben. Die Reduktionsflüssigkeit muß zwölf Stunden bei Zimmertemperatur einwirken.
- 7 Wasserspülung
- 8 Härten in steigendem Alkohol und Paraffineinbettung.

Schnellfärbung

- 1 20%iges Formalin fünf Stunden
- 2 90%iger Alkohol fünf Stunden
- 3 Aqua dest. 10 bis 20 Minuten.
- 4 2%ige Argentum-nitricum Lösung 12 bis 15 Stunden.
- 5 Ammoniak 10 bis 15 Minuten.
1 bis 5 bei 37°
- 6 Wasserspülung und Reduktion in Pyrogallolformalin (s. o.)
ein bis zwei Stunden bei Zimmertemperatur
- 7 Härten in steigendem Alkohol

Färbung in einzelnen Schnitten.

Gefrierschnitte von 15 bis 20 μ oder Celloidin- und Paraffinschnitte nach Lösung des Einbettungsmaterials werden in folgender Weise behandelt

- 1 Einlegen zehn Minuten in konzentriertes Pyridin
- 2 Auswaschen in drei Schalen mit Aqua dest
- 3 15 Minuten 1%ige Urannitratlösung
- 4 Auswaschen in zwei Schalen mit Aqua dest
- 5 Einlegen in ein Schälchen mit 0.2%iger Silbernitratlösung
vorsichtig bis zur Blasenbildung (nicht starker) erhitzen, erkalten lassen
und nach wenigstens zwei Minuten darnach darin liegen lassen.
- 6 Übertragen in Schälchen mit 10 cm^3 1%iger Silbernitratlösung,
2 cm^3 wässrige 5%ige Weinsäurelösung und 10 cm^3 1%ige wässrige
Pyrogallollösung hinzufügen gut mischen und Schälchen leicht schwenken,
damit der Entwicklungsprozeß gleichmäßig vor sich geht.
- 7 Abspülen der gelblichbraunen Schnitte mit Wasser Einlegen
in Alkohol usw

Die Spirochäten erscheinen dunkelschwarz das Gewebe ist gelb gefärbt.

Morphologie.

Im gutgefärbten Giemsapräparat erscheinen die Spirochäten als sehr feine, deutlich rot gefärbte Spiralen deren Enden meist scharf zugespitzt sind. Sie zeigen 6 bis 20 und mehr regelmäßige tiefe steile korkzieherartige Windungen. Charakteristisch ist auch die gestreckte Form die das ganze Gebilde trotz der zahlreichen Windungen besitzt. Meist liegen die Spirochäten einzeln öfters sieht man sie aber auch zu zweien im spitzen Winkel oder in einer Flucht hintereinander oder auch Y förmig gelagert mitunter liegen sie in Haufen knäuel- oder zopfartig verflochten. Neben typisch aussehenden Exemplaren finden sich im gleichen Präparat nicht selten auch atypische Formen deren Windungen auf kurze Strecken abgeflacht oder ganz fadenförmig ausgezogen sind. Andere Spirochäten sind an den

Enden spiralig aufgerollt oder zeigen an ihnen runde Anschwellungen.

Die lebenden Spirochäten sind charakterisiert durch ihre Zartheit ihr geringes Lichtbrechungsvermögen ihre unregelmäßigen engen tiefen steilen meist zahlreichen Windungen ihre Formbeständigkeit bei Bewegungen und im Zustand der Ruhe. Diese Formbeständigkeit gibt der Spirochäte ein eigentümlich gedrehtes starres Aussehen. Die Windungen nehmen nach dem Ende zumeist an Höhe ab die Enden sind gewöhnlich zugespitzt. In demselben Präparat findet man neben sehr langen auch kurze Exemplare. Die Spirochäten haben eine sehr charakteristische meist lebhafteste Eigenbewegung. Man sieht rotierende Bewegungen um die Längsachse Vor- und Rückwärtsgleiten und Beugebewegungen des ganzen Körpers die mit dem Beugen und Zurückschnellen eines elastischen Rohres verglichen werden (Achsenknickung).

Differentialdiagnose.

Für die Differentialdiagnose kommen vor allem in Betracht die *Spirochaeta refringens balanitidis buccalis* Vincenti dentium und *Sp. pallidula pertenuis*. Von diesen Spirochäten ist die *Sp. pallida* bei einiger Übung und Aufmerksamkeit in der Regel sicher zu unterscheiden. Eine Ausnahme bildet die bei *Framboesia tropica* gefundene *Sp. pallidula* von der sie morphologisch bisher nicht zu trennen ist.

Im Glensappräparat erscheint die *Sp. pallida* rot die meisten übrigen Spirochäten sind violett bis blau gefärbt. Sie sind im Verhältnis zu ihrer Länge meist dicker und plumper die feineren Formen dagegen kürzer als die *Sp. pallida*. Sie enden meist stumpf ihre Windungen sind flacher. Im frischen Präparat sind sie lebhafter beweglich stärker lichtbrechend und infolgedessen auch leichter aufzufinden als die *Sp. pallida*. Ferner lassen sie die Formbeständigkeit der *Sp. pallida* vermissen sie zeigen die spiraligen Windungen nur während der Bewegungen in der Ruhe nehmen sie eine flach gewundene mehr der geraden

Linie sich nähernde Gestalt an Sehr große Ähnlichkeit mit der *Sp pallida* besitzt die *Sp dentium* sie färbt sich nach *Giemsa* ebenfalls rot ist auch sehr fein mit regelmäßigen Windungen schwach lichtbrechend und formbeständig bei Bewegungen Sie unterscheidet sich jedoch von der *Sp pallida* durch die geringere Tiefe der Windungen

Um Täuschungen zu entgehen dürfen zur Stellung der Diagnose solange sie sich allein auf die morphologischen Eigenschaften der *Sp pallida* stützt nur Individuen berücksichtigt werden die vollkommen dem Normaltypus entsprechen Bei der Untersuchung von Oberflächensekret ist die „*Hoffmannsche Regel*“ zu beachten, die besagt daß die *Spirochaeta pallida* nur dann sicher diagnostiziert werden darf wenn außer dem Typus *Pallida* keine anderen Spirochätenformen vorhanden sind.

Die Zucht der *Spirochaeta pallida* sowie der Tierversuch kommen für diagnostische Zwecke nicht in Betracht

XII Kapitel.

Die gebräuchlichsten bakteriologischen Untersuchungsmethoden, Farbrezepte, Nährböden

Zur Untersuchung im hängenden Tropfen bedient man sich des hohlgeschliffenen Objektträgers. Seine Höhlung wird mit einer Vaseline-schicht umzogen. Dann bringt man auf die Mitte eines in eine *Cornatsche* Pinzette gespannten Deckglases mit der ausgeglühten und wieder abgekühlten Platinöse einen Tropfen steriler physiologischer (0.85%iger) Kochsalzlösung oder Bouillon und schwemmt mittels ausgeglühter Platinnadel eine ganz kleine Menge des bakterienhaltigen Materials darin auf Von flüssigem Untersuchungsmaterial wird ein Tropfen direkt auf das Deckglas gebracht. Der Tropfen soll flach

und rund sein. Das Deckgläschen wird darauf so auf den Objektträger gelegt, daß der Tropfen frei in seine Höhlung hineinhängt, die durch das gegen das Vaseline fest angedrückte Deckgläschen vollkommen verschlossen wird.

Bei der mikroskopischen Untersuchung benutzt man den Hohlspiegel und schaltet die Irisblende ein. Zunächst stellt man sich bei ganz enggestellter Blende und schwacher Vergrößerung den Rand des Tropfens ein, der dann als hellglänzende Linie die Mitte des Gesichtsfeldes durchzieht. Nun wird die Blende etwas geöffnet, ohne das Präparat zu verschieben, ein Tropfen Cedernöl auf das Deckglas gebracht und das schwache Objektiv mit der Immersionallinse vertauscht. Man stellt zunächst wieder den Rand des Tropfens ein. Um ein Zertrümmern des Deckglases zu vermeiden, muß der Tubus, nachdem die Linse in das Öl eingetaucht, sehr vorsichtig gesenkt werden. Anfängern ist für die Einstellung folgender kleiner Kunstgriff zu empfehlen: Man stellt mit der Immersionallinse zunächst die zwischen Deckglas und Objektträger befindliche Fettschicht ein. An dieser Stelle liegt das Deckglas fest auf, eine Gefahr, es zu zertrümmern, besteht nicht. Dann bringt man durch vorsichtiges Verschieben des Objektträgers den hängenden Tropfen unter die Linse. Da er in derselben Gesichtsebene wie die Fettschicht liegt, bedarf es nur geringer Drehung an der Mikrometerschraube, um ihn scharf einzustellen.

Nach Beendigung der Untersuchung wird das Deckgläschen mit der Pinzette vom Objektträger abgehoben, ohne daß der Tropfen diesen berührt. Das Deckgläschen wird verbrannt oder zur Abtötung der Bakterien in rohe Schwefelsäure geworfen. Der Objektträger kann sogleich von neuem benutzt werden.

Reinigung der Deckgläschen: Neue Deckgläschen und Objektträger werden mit Leinwand, die mit Alkohol und Äther $\alpha\alpha$, mit Benzin oder Xylol getränkt ist, gepulvt. Die Reinigung wird erleichtert, wenn man die Gläschen vorher auf einem Eisenblech über der Flamme erhitzt. Meist ist das Erhitzen allein ausreichend.

Gebrauchte Gläschen werden in ein Gefäß mit einer Dichromat-Schwefelsäure-Lösung (60 g Kaliumdichromat, 60 g Schwefel

saure auf 1 Liter Wasser) geworfen. Zur Reinigung werden sie nach Abreiben der Lösung mehrfach mit Wasser gewaschen, in Sodawasser gekocht, wiederum mit Wasser gewaschen, und, wie oben beschrieben, getupft.

Herstellung der Präparate 1 Flüssiges Material wird direkt auf dem in der *Cornetschen* Pinzette befindlichen Deckglas oder auf dem Objektträger mit der Platinöse in gleichmäßig dünner Schicht ausgestrichen, festes Material nach Aufschwemmung in einem Tropfen sterilen Wassers

2 Das Präparat wird an der Luft getrocknet. Durch vorsichtiges Erwärmen über der Flamme wobei die Präparatseite nach oben gerichtet ist kann das Trocknen beschleunigt werden.

3 Das Präparat wird fixiert indem es — die Präparatseite nach oben — dreimal durch die Flamme gezogen wird Für besondere Zwecke, z. B. Untersuchungen von Blut fixiert man die Präparate durch Einlegen in Alkohol (zehn Minuten) oder in Alkohol und Äther na zwei bis zehn Minuten. Fixieren durch Osmiumdämpfe Seite 511

4 Zur Färbung wird mit einer Pipette oder aus einer Tropfenflasche so viel Farblösung auf das Präparat geträufelt daß es schwappend bedeckt ist.

Die Färbung wird in der Kälte oder unter Erwärmen über der kleinen Flamme bis zur Dampfbildung vorgenommen Die Färbedauer schwankt zwischen einigen Sekunden und mehreren Minuten je nach der Art der Bakterien und der Methode der Färbung

5 Abspülen mit Wasser

6 Trocknen zwischen Fliesspapier oder an der Luft.

7 Einlegen in Canadabalsam oder Zedernöl (bei Verwendung von Deckgläschen)

Die Untersuchung gefärbter Präparate wird bei geöffneter Blende mit Immersionslinse *Abbeschem* Beleuchtungsapparat und Planspiegel vorgenommen. Zum Durchmustern der Präparate benutzt man schwache Okulare da starke Okulare das Bild zwar größer aber gleichzeitig dunkler und undentlicher erscheinen lassen

Färbemethoden und Farblösungen

Die Färbung der Bakterien geschieht mit basischen Anilinfarbstoffen. Mit Ausnahme der sauresten färben sich die meisten Bakterien mit verdünnten wässrigen Farblösungen, die jedoch nur beschränkte Zeit haltbar sind. Man stellt sich daher zunächst sogenannte Stammlösungen her, die lange Zeit aufbewahrt werden können, und verdünnt diese zum Gebrauch. Alle Farblösungen müssen sorgfältig filtriert werden.

Als Stammlösung für Methylenblau dient Boraxmethylenblau oder eine konzentrierte alkoholische oder wässrige Methylenblaulösung. Die letzteren werden bereitet, indem man in einem mit Glasstopfen verschließbaren Gefäß so viel Farbstoff mit 96%igem Alkohol oder destilliertem Wasser übergießt, daß ein Teil ungelöst bleibt. Die Lösung wird von dem Bodensatz abfiltriert.

Boraxmethylenblau:

Methylenblau	20
Borax	0.5
Aq. dest.	100.0

Als Stammlösung für Fuchsin dient das Zinkische Carbolfuchsin.

Zinkisches Carbolfuchsin:

Fuchsin	1.0
Alkohol 96%	10.0
Acid. carbol. liquefact.	5.0
Aq. dest.	100.0

Die Methylenblaustammlösung wird zum Gebrauch in einem Reagensglase so stark mit destilliertem Wasser verdünnt, daß sie gerade durchsichtig ist.

Aus Carbolfuchsin wird die verdünnte Farblösung durch Mischen mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers bereitet.

Färbung nach Gram

1. Carbolgentianaviolett drei Minuten ohne das Präparat zu erwärmen (Farbstoff durch ein Filter auf das Präparat träufeln.)

2. Lugolsche Lösung eineinhalbe Minute.

3. Trocknen zwischen Fliesspapier (keine Wasserspülung)

XII Kapitel

- 4 Waschen in 3%igem Acetonspiritus solange Farbwolken vom Präparat abgehen.
- 5 Wasserspülung
- 6 Bismarckbraun zwei Minuten oder verdünnte Neutralrotlösung eine Minute
- 7 Wasserspülung Trocknen usw

Carbolgentianaviolett	1-0	Jod	1-0
Gentianaviolett	10-0	Kal. Jod.	300-0
Alkohol 98%	5-0	Aq. dest.	10-0
Acid. carb. liq.	100-0	(solve Jod und Kal. Jodatium in Aq. dest. 15-0 adde Aq. dest. ad 300-0)	

Acetonspiritus:		Bismarckbraun	1-0
Aceton	3-0	Alkohol 98%	10-0
Alkohol 98% ad	100-0	Aq. dest. servid.	100-0
Als Stammlösung für Neutralrot dient eine 1%ige wässrige Lösung, von der die Farblösung durch zwei- bis dreifache Verdünnung mit Aq. dest. hergestellt wird. Ältere Lösungen können noch stärker verdünnt werden			

Abgekürzte Gramfärbung

- 1 Färben mit 0.5%iger wässriger Methylviolett lösung (6 B) zwei Minuten
- 2 Abspülen mit Jodjodkaliumlösung und sofortiges Wiederaufgießen derselben, eine Minute
- 3 Trocknen zwischen Fließpapier
- 4 Entfärbung mit absolutem Alkohol oder 3%igem Acetonalkohol bis keine Farbwolken mehr abgehen.
- 5 Wasserspülung
- 6 Nachfärben mit Neutralrotlösung (s. o.) eine halbe Minute.
- 7 Abspülen mit Wasser usw

Färbung der Tuberkelbacillen und der anderen säurefesten Bakterien

Methode von Ziehl-Neelsen

- 1 Carbofuchsin drei Minuten unter Erwärmen bis zur Dampfbildung (Nicht Kochen!)
- 2 Wasserspülung

3. 10%ige Salpetersäure oder 3%ige Salzsäure drei bis fünf Sekunden.

4. Wasserspülung

5. 60%iger Alkohol bis zur Entfärbung

6. Wasserspülung

Wenn das Präparat noch nicht genügend entfärbt ist, sind 3 bis 6 zu wiederholen.

7. Stark verdünnte Methylenblaulösung eine halbe Minute oder konzentrierte wässrige Pikrinsäurelösung etwa drei Minuten.

8. Wasserspülung usw.

Carbolfuchsin vgl. Seite 519

Färbung nach Konrick

1. Carbolfuchsin zwei Minuten unter Erwärmen.

2. Wasserspülung

3. Entfärbung in 10%iger wässriger Natriumsulfitlösung (Alle zwei bis drei Tage erneuern.)

4. Wasserspülung.

5. Nachfärben mit konzentrierter wässriger Pikrinsäure- oder Malachitgrünlösung (zwei bis fünf Minuten)

6. Wasserspülung

Es empfiehlt sich vor der Nachfärbung noch mit 60%igem Alkohol zu differenzieren.

Muschsche Färbung (modifizierte Grammethode II)

1. Ein- bis zweimal 24stündige Färbung bei Zimmertemperatur in einer konzentrierten alkoholischen Lösung von Methylviolett B N (10 cm³ gesättigte alkoholische Lösung in 100 cm³ 3%igem Carbolwasser. Sorgfältiges Filtrieren des Gemisches. Aufrechtes Einstellen der Objektträger in zylinderförmige Glasbehälter um möglichst Niederschläge zu vermeiden.)

2. Jodierung mit Lugolscher Lösung 10 bis 15 Minuten.

3. 5%ige Salpetersäure eine Minute.

4. 3%ige Salzsäure zehn Sekunden

5 Aceton Alkohol (aa) Die Entfärbung geschieht so lange bis kein Farbstoff mehr abfließt Wiederholte Kontrolle des Präparates unter dem Mikroskop!

6 Abtrocknen mit Fließpapier

7 Nachfärbung mit einer 1%igen Safraninlösung fünf bis zehn Sekunden.

8 Abspülen mit Wasser usw

Doppelfärbung nach Weiß

1 Färbung in einer Mischung von Methylviolett lösung nach Much (s o) 0.25 cm^3 und Carbofuchsin 0.75 cm^3 Zweimal 24 Stunden bei Zimmertemperatur (das Farbgemisch muß sorgfältig filtriert werden)

2 Jodierung mit Lugolscher Lösung fünf Minuten in der Kälte oder unter Erwärmen über der Flamme bis zum Aufsteigen von Dämpfen.

3 5%ige Salpetersäure eine Minute.

4 3%ige Salzsäure zehn Sekunden

5 Aceton Alkohol (aa) Die Entfärbung geschieht so lange bis kein Farbstoff mehr abgeht. Wiederholtes Kontrollieren des Präparates unter dem Mikroskop

6 Abtrocknen mit Fließpapier

7 Nachfärbung mit einer 1%igen Safraninlösung fünf bis zehn Sekunden bzw Bismarckbraun eine Minute.

8 Abspülen mit Wasser usw

Färbung der Knochenbakterien.

Toluidinblau „Grübler	5.0
Alk. abs.	100.0
Aq. dest.	500.0

In der Kälte auflösen dann 500 cm^3 5%iges Aq. carbolisata hinzufügen ein bis zwei Tage stehenlassen filtrieren. Färbung zwei bis drei Sekunden

Färbung der Diphtheriebacillen.

Färbung mit Carbofuchsin 1 10 Aq. dest. eine Minute ohne zu erwärmen.

Färbung mit *Löfflers* alkalischem Methylenblau.

Zwei Minuten ohne zu erwärmen

Löfflers alkalisches Methylenblau.

Konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung	80°0
0.01%ige wässrige Kalilauge	100°0

Färbung nach *Neisser*

- 1 Farbstoff I eine bis zwei Minuten
- 2 Spülung mit Aq. dest.
- 3 Farbstoff II eine bis zwei Minuten
- 4 Spülung mit Aq. fontanen.

Farbstoff I besteht aus zwei Teilen Lösung a und einem Teil Lösung b.

Lösung a:		Lösung b	
Methylenblau	1°0	Kristallviolett	1°0
Alkohol	20°0	Alkohol	10°0
Aq. dest.	1000°0	Aq. dest.	200°0
Acid. acetic. glacial.	50°0		

Farbstoff II Chrysoidin 1°0 Aq. dest. fervid. 200°0

Ginsse Modification der *Neisser* Färbung

- 1 Färbung mit Farbstoff I eine bis zwei Minuten.
- 2 *Lugolsche* Lösung, die 1% konzentrierter Milchsäure enthält drei bis fünf Sekunden Gut abspülen
- 3 Nachfärben mit Chrysoidin eine bis zwei Minuten

Verlängerte Gramfärbung nach *Langer*

- 1 Färbung mit Anilinwasserbrillantgrünlösung zwei Minuten
2. Nach gründlichem Abspülen *Lugolsche* Lösung fünf Minuten.
- 3 Entfärbung in Alkohol (möglichst wasserfrei) oder 30%igem Acetonalkohol 15 Minuten

a) Methode von Löffler

1 Beizen der Geißeln unter Erwärmen bis zum schwachen Dampfen (Beize s. u.)

2. Wasserspülung bis die Beize vollkommen entfernt ist.

3 Abspülen in Alkohol.

4 Färbung mit Anilinwasserfuchsinlösung der 1% Natronlauge bis zum Eintritt der Schwebefällung zu gesetzt ist eine Minute unter Erwärmen bis zur Dampfbildung

Beize.

20%ige Tanninlösung 10 cm³
 Kalt gesättigte Ferrosulfat
 lösung 5 cm³
 Wasserige oder alkoholische
 Fuchsinlösung 1 cm³

Für manche Bakterien muß der
 Beize Alkali (einige Tropfen
 1%iger NaOH Lösung), für
 andere Säuren (H₂SO₄) zu-
 gesetzt werden.

Anilinwasser

Man gibt zu 5 Teilen Anilinöl 100 Teile Wasser schüttelt tüchtig durch und filtriert durch ein angefeuchtetes Filter. Das Filtrat muß vollkommen klar sein. In dem Anilinwasser wird die Farbe direkt gelöst oder es wird von einer konzentrierten, alkoholischen Lösung so viel zugegeben, bis eine deutliche Opaleszenz entsteht.

b) Methode von Zellnow

1 Herstellung der Ausstriche Man bringt etwas Bakterienmaterial in ein Tröpfchen Wasser auf einen Objektträger überträgt hiervon eine Spur in einen größeren Wassertropfen dem eine bis zwei Ösen 2%ige Osmiumsäurelösung zugesetzt sind und stellt von dieser Aufschwemmung Deckglaspräparate her. Nachdem sie lufttrocken geworden sind werden sie fixiert (s. o.)

2 Beizen Die Präparate werden mit der Schichtseite nach unten in ein Blockschälchen gelegt und mit der erhitzten klaren Beize übergossen. Die mit einer Glasplatte bedeckten Schälchen werden auf fünf bis sieben Minuten an eine etwa 100° C heiße Stelle gestellt z. B. auf eine über einem kochenden Wasserbad liegende Blechplatte. Dann

läßt man nach Abnehmen des Deckels so weit erkalten daß die Beize sich zu trüben beginnt.

3 Sorgfältige Wasserspülung

4 Drei bis vier Tropfen Äthylaminsilberlösung auf das Präparat träufeln und erhitzen bis die Flüssigkeit raucht und die Ränder des Ausstriches schwarz werden

5 Wasserspülung

Die Bakterien und Geißeln erscheinen schwarz auf hellem Grund

Beize: 10 g Tannin werden unter Erwärmen auf 50 bis 60° in 200 cm³ Aq. dest. gelöst, dann werden 36 bis 37 cm³ einer Lösung von 2 g Tartarus stibiatus in 40 cm³ Aq. dest. hinzugefügt. Erhitzen, bis der Niederschlag gelöst ist. Von der klaren Beize eine Probe in ein Reagenzglas gießen, in kaltem Wasser abkühlen lassen. Die Beize muß jetzt deutlich getrübt erscheinen. Ist die Trübung zu stark — milchweiß — wird etwas Tannin zu der II. Opt. Masse hinzugesetzt. Ist sie klar kommt 1 cm³ der Tart. stib. Lösung hinzu. Die Beize soll beim Erkalten sich nach fünf Minuten zu trüben anfangen, aber keinen Niederschlag bilden. Sie ist nach Zusatz von Thymol haltbar.

Äthylaminsilberlösung 2 bis 3 g Silbernitrat werden mit 200 cm³ Wasser zur Erzielung einer gesättigten Lösung kräftig geschüttelt, eine beliebige Menge derselben wird mit gleichen Teilen Aq. dest. versetzt, dann wird tropfenweise so viel 33%ige Äthylaminlösung hinzugegeben, bis der anfängliche Niederschlag sich eben wieder gelöst hat. Diese Lösung ist ebenfalls haltbar. Nach einigen Tagen auftretende Braunfärbung ist unschädlich.

Färbung der Fadenpilze.

Die Schuppen werden wie auf S. 499 geschildert, fixiert. Sie sollen nach der Fixierung noch etwas feucht auf trockener Umgebung liegen.

Die Färbung gelingt häufig schon mit Boraxmethylenblau und Löfflers Methylenblau

Methode von Bizzozero-Plaut

Färbung mit Ziehl'scher Lösung drei Minuten lang vorsichtig mit Filtpapier abtupfen. Jodjodkali-Lösung (1 : 2 : 300) eine Minute dann Entfärbung mit Anilinöl bis keine Farbwölkchen mehr abgehen. Untersuchung in Anilinöl oder Xylol. Die Pilzelemente erscheinen tief dunkelrot das Gewebe blaßrosa gefärbt.

Methode von Weiss

Lösung A	Acid. tannic.	50.0 g
	Alkohol 95%ig	50 cm ³

Lösung B Lösung 75
 Formalin 50%ig ad 1000

Unmittelbar vor dem Gebrauch einen Teil A mit zwei Teilen B mischen. Hiermit das frische Präparat fünf Minuten unter Erwärmen färben, mit warmem Wasser abspülen. Mit *Löfflers* Methylenblau drei bis fünf Minuten nachfärben.

Färbung nach Kühn-Weigert.

- 1 Kristallviolett (vgl. Seite 532) zirka fünf Minuten.
- 2 *Lugolsche* Lösung bis zur Schwarzfärbung (ein bis zwei Minuten)
- 3 Abtrocknen mit Fliesspapier
4. Anilinöl, bis kein Farbstoff mehr abgeht
- 5 Xylol (zur Entfernung des Anilinöls)
- 6 Canadabalsam

Färbung von Blutpräparaten.

Blutpräparate werden in Alkohol zehn Minuten, in Alkohol und Äther aa drei Minuten in Methylalkohol drei bis fünf Minuten oder in Osmiumdämpfen (vgl. Seite 511) fixiert.

Methode von *Manson* 1 Färbung mit Borax methylenblaulösung (vgl. Seite 519) die so stark verdünnt wird daß sie im Reagensglas gerade durchsichtig erscheint fünf bis zehn Sekunden.

(Das Präparat wird in die Farblösung eingetaucht.)

2 Abspülen in einem Glas Leitungswasser bis das Präparat einen grünlichen Farbenton zeigt.

3 Trocknen Einlegen in Cederholzöl.

Methode von *May-Grünwald* vgl. Seite 316

Methode von *Giemsa* vgl. Seite 315

Methode von *Leishman* vgl. Seite 317

Panoptische Methode vgl. Seite 317

Untersuchung von Schnittpräparaten

Die zu untersuchenden Organstücke werden in 10%iger Formalinlösung fixiert und in steigendem Alkohol gehärtet.

Einbettung in Paraffin.

- 1 Einlegen in Xylol bis das Präparat durchsichtig ist
- 2 Nach vorsichtigem Abtrocknen zwischen Fließpapier Einlegen im Thermostaten von 55° in aufgeschmolzenes Paraffin vom Schmelzpunkte 54 bis 56° Paraffin einmal wechseln.

3 Ausgießen des flüssigen Paraffins in einen Einbettungsrahmen nachdem das Präparat darin in der gewünschten Weise fixiert ist. Das Paraffin wird durch Übergießen mit Wasser oder im Eisschrank schnell zum Erstarren gebracht.

Der erstarrte Paraffinblock wird zurechtgeschnitten, auf einem Holzblock aufgeschmolzen und mit dem Mikrotom geschnitten ohne das Messer zu befeuchten.

Die einzelnen Schnitte werden in eine Schale mit warmem Wasser (zirka 45°) übertragen und von hier mit dem Objektträger herausgenommen der ganz dünn mit Glycerin eiweiß (s. u.) bestrichen sein kann, indem man ihn unter den schwimmenden Schnitt schiebt. Durch Schräghalten läßt man das Wasser ablaufen entfernt den Rest mit Fließpapier und bringt dann die Objektträger mit den Schnitten auf den Brutofen. Nach einigen Stunden werden die Schnitte in folgender Weise weiter behandelt

- 1 Entfernung des Paraffins durch Einlegen in Xylol
- 2 Einlegen in absoluten Alkohol.
- 3 Einlegen in 60%igen Alkohol.
- 4 Einlegen in Wasser
- 5 Färbung
- 6 Auswaschen in Wasser
- 7 Entwässern nacheinander in 60%igem und absolutem Alkohol
- 8 Aufhellen in Xylol und Carbolxylol
- 9 Einlegen in Canadabalsam

Glycerineiweißlösung

Ein abgemessenes Quantum Eiweiß wird zu Schaum geschlagen und mit dem gleichen Volumen reinen Glycerins versetzt. Dann wird die Masse filtriert.

Einbetten in Celloidin

Man stellt sich zwei Celloidinlösungen her eine dünn flüssige und eine dickflüssige von Sirupkonsistenz indem man Celloidin in Alkohol und Äther \overline{aa} löst

Die Organstückchen die nicht dicker als 1 cm sein sollen kommen aus dem absoluten Alkohol auf 24 Stunden in eine Mischung von Alkohol und Äther \overline{aa} dann wenigstens 48 Stunden in das dünnflüssige und ebenso lange in das dickflüssige Celloidin. Darauf werden sie auf einen Kork gebracht der mit einer kleinen Papierhülle umgeben ist mit der dickflüssigen Lösung allmählich übergossen bis sie reichlich davon eingehüllt sind und um zu schnelles Verdunsten zu verhüten mit einer Glasglocke bedeckt. — Ist das Celloidin genügend eingetrocknet so werden die Objekte nach Entfernung der Papierhülle für 24 Stunden in 80%igen Alkohol gelegt

Beim Schneiden werden Messer und Objekt mit Alkohol befeuchtet Die Schnitte werden in einer Schale mit 60%igem Alkohol aufgefangen und schwimmend gefärbt

Universelle Färbemethoden zur Darstellung der Bakterien in Schnitten.

Methode von Löffler

1 Färbung in *Löfflers* Methylenblau drei bis fünf Minuten

2 Differenzieren in 0.5- bis 1%iger Essigsäure 10 bis 20 Sekunden

3 Trocknen zwischen Fießpapier Xylol Canada balsam

Färbung mit Gentianaviolett.

1 Färbung in 2%iger wässriger oder alkoholischer Gentianaviolettlösung bis der Schnitt dunkelvioletts erscheint.

2 Auswaschen in absolutem Alkohol bis der Schnitt eine hellviolette Färbung annimmt.

3 Trocknen zwischen Fießpapier Aufhellen in Xylol Einlegen in Canadabalsam

Methode von Pfeiffer

- 1 Färbung in Carbolfuchsin 1 10 30 Minuten
- 2 Differenzieren in 60%igem Alkohol dem ein Tropfen Essigsäure zugesetzt ist bis die Schnitte grau violett aussehen
- 3 Trocknen zwischen Fliesspapier Xylol Canada balsam

Spezielle Färbemethoden.

Gramsche Färbung

- 1 Färbung mit Anilinwassergentianaviolett (vgl. Seite 526) 5 bis 30 Minuten.
- 2 Lugolsche Lösung (vgl. Seite 520) ein bis zwei Minuten.
- 3 Differenzieren in absolutem Alkohol bis der Schnitt nahezu farblos ist.
- 4 Wasserspülung
- 5 Färbung mit Bismarckbraun (vgl. Seite 520) ein bis zwei Minuten
- 6 Trocknen zwischen Fliesspapier Xylol Canada balsam.

Methode von Kühne-Weigert.

- 1 Färben in Lithioncarmin zwei bis drei Minuten
- 2 Abspülen in 3%igem salzsaurem Spiritus (70%)
- 3 Abspülen in Aqua destillata.
- 4 Färben mit Kristallviolett fünf bis zehn Minuten
- 5 Behandeln mit Lugolscher Lösung bis zur Schwarzfärbung (zirka ein bis zwei Minuten)
- 6 Abtrocknen mit Fliesspapier
- 7 Behandeln mit Anilinöl bis kein Farbstoff mehr abgeht.
- 8 Aufhellen mit Xylol Einlegen in Canadabalsam

Lithioncarmin:

Carmin 2.5 bis 5.0

Gesättigte wässrige Lösung von Lithion carbonicum 100.0

Kristallviolett

Stammlösung: Kristallviolett	1·0
Alkohol 90%ig	10·0

Farblösung: 1 cm³ der Stammlösung wird mit 10 cm³ Aqua dest. verdünnt und mit einem Tropfen Salzsäure versetzt

Färbung der Tuberkelbacillen.

a) 1 Färbung in Carbolfuchsin 15 Minuten unter Erwärmen bis zur Dampfbildung oder 24 Stunden im Brutschrank bei 37°

2. Wasserspülung

3 Entfärben in 3%igem salzsaurem Spiritus (70%)

4 Wasserspülung

5 Nachfärben mit verdünnter Methylenblaulösung zwei bis drei Minuten

6 Abspülen in Wasser

7 Trocknen zwischen Fließpapier und über der Flamme (kein Alkohol) Xylol Canada balsam

b) 1 Färben in Carbolfuchsin 30 Minuten unter Erwärmen

2. Entfärben in 20%iger Salpetersäure oder 3%iger Salzsäure zehn Sekunden und 60%igem Alkohol bis der Schnitt farblos erscheint.

3 Abspülen in Wasser

4 Nachfärben mit verdünnter Methylenblaulösung zwei bis drei Minuten.

5 Abspülen in Wasser

6 Trocknen zwischen Fließpapier Xylol Canada balsam.

Färbung der Dacrysehen Bacillen

a) Methode von *Petersen* für Paraffinschnitte

1 Färbung in *Unnas* Methylenblaulösung 24 Stunden

2 Anilinöl zirka drei bis vier Stunden.

3 Anilinxytol eineinhalb bis drei Stunden

4. Xylol Canadabalsam

b) Methode von *Krefting* für Celloidin schnitte.

- 1 Färbung auf dem Objektträger mit *Unnas* Methylen
blau zwei bis fünf Minuten
- 2 Abtrocknen mit Fliesspapier
- 3 Anilinoxylol zwei bis drei Stunden
- 4 Xylol, Canadabalsam.

Unnas Methylenblau.

Methylenblau,	
Kal. carbonic. $\frac{aa}{}$	1:0
Aq. dest.	100:0
Spirit.	20:0
M. coque ad roman. 100:0	Adde
Methylenblau,	
Borax. $\frac{aa}{}$	10:0
In Aq. dest.	100:0
soluta misc.	

IV Kulturverfahren

Bereitgung der Nährböden

Kartoffeln als Nährboden

Die Kartoffeln werden unter der Wasserleitung mit der Bürste gereinigt, nach Ausschneiden der sogenannten Augen geschält, in Scheiben geschnitten, in *Petrisc*he Schalen gelegt und an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Man kann auch aus der geschälten Kartoffel mit einem weiten Korkbohrer Zylinder ausstechen und diese durch einen schrägen Schnitt halbdieren. Die so erhaltenen Kartoffelkelle kommen mit der Basis nach unten in ein weites Reagensglas, das 1 cm oberhalb der Kuppe eine Einschnürung besitzt (*Romss*ches Röhrchen) und werden in der oben angegebenen Weise im Dampftopf sterilisiert. An statt der *Romss*chen Röhrchen kommen auch gewöhnliche Reagensgläser zur Verwendung, in deren Kuppe sich etwas Watte zum Aufsaugen des Kondenswassers befindet. Sicher alkalische Kartoffel werden durch zehn Minuten langes Kochen in Sodalösung bereitet.

Nährbouillon

1 500 g fettfreies zermahlenes Fleisch übergießt man mit 1 l Wasser kocht eineinhalb Stunden oder läßt die Mischung 24 Stunden im Eisschrank stehen. Bei Bereitung größerer Mengen Nährböden kocht man entsprechend länger aber nicht mehr als drei Stunden. Dann wird durch ein Papierfilter filtriert, das Fleisch in einem Leinentuch gut ausgepreßt und die Flüssigkeit auf die ursprüngliche Menge mit Wasser aufgefüllt.

2 Zu dem Aufguß wird 1% Pepton 0.3% Kochsalz und 0.2% lösliches Natriumphosphat (auf die Wassermenge berechnet) zugesetzt. Pepton wird vor dem Zusatz im Mörser mit etwas Wasser zu einem gleichmäßigen Brei angerührt.

3 Kochen im Dampftopf zirka eine halbe Stunde pro Liter Flüssigkeit.

4 Filtrieren durch ein feuchtes Faltenfilter.

5 Neutralisieren bzw. Alkalisieren mit 10%iger Soda-lösung. Prüfung mit Lackmuspapier oder mittels der Indikatorenmethode von *Michailis* (vgl. S. 158).

6 Kochen im Dampftopf eine halbe Stunde pro Liter Flüssigkeit.

7 Filtrieren. Das Filtrat muß vollkommen klar sein.

8 Prüfung der Reaktion muß sie korrigiert werden, so ist nochmaliges Kochen und Filtrieren erforderlich.

9 Abfüllen in mit Watte verschlossene Reagensgläser, die im Trockenschrank bei 100° eine halbe Stunde lang sterilisiert sind.

10 Sterilisieren im Dampftopf an drei aufeinander folgenden Tagen je eine halbe Stunde (in der Zwischenzeit bei Zimmertemperatur aufbewahren) oder einmal eine halbe Stunde im Autoklaven bei 106°.

11 Prüfung auf Sterilität durch 24stündiges Einstellen in den Brutschrank bei 37°.

Nähragar

1 bis 4 wie bei Nährbouillon.

5 Zusatz von 2 bis 3% feingeschnittenem Stangenagar oder pulverisiertem Agar Kochen bis zur Auflösung. Pulverisierten Agar verrührt man vor dem Zusatz mit etwas Wasser im Mörser zu einem Brei. Stangenagar schneidet man in kleine Stücke und läßt ihn vor dem Zusatz zur Bouillon 24 Stunden lang in einer abgemessenen Menge Wasser quellen. Das hierzu verbrauchte Wasser muß von dem zur Herstellung der Bouillon benutzten abgezogen werden.

6 Einstellen der Reaktion (vgl. Nährbouillon)

7 Kochen im Dampfstopf eine halbe Stunde pro Liter Flüssigkeit.

8. Klären durch Zusatz des Weißen eines Hühnerereis das in 50 cm³ Wasser eingerührt ist zu dem auf 60° abgekühlten Nährboden. Anstatt Hühnerereis kann auch Ascitesflüssigkeit verwandt werden.

9 Kochen zwei Stunden pro Liter. Der Nährboden bleibt bei kleiner Flamme im Dampfstopf bis der Niederschlag sich vollkommen zu Boden gesetzt hat.

10 Filtrieren durch ein Wattefilter (s. u.)

11 Abfällen in sterile Reagensgläser und zwar in Mengen von 15 cm³ in Röhrchen die später zum Gießen von Platten verwendet werden sollen (hochgefüllte Röhrchen) und in Mengen von 5 cm³ zur Herstellung schräg erstarrter Agarröhrchen.

12 Sterilisieren wie Nährbouillon.

13 Schräglegen der niedrig gefüllten Röhrchen.

Das Filter zum Filtrieren des Agars wird in folgender Weise hergestellt. In die Spitze eines Email- oder besser Heißwassertrichters kommt eine dünne Lage entfetteter Watte, darüber ein kleines feinmaschiges Drahtnetz. Die obere Öffnung des Trichters wird ebenfalls mit einem derartigen Drahtnetz bedeckt, darüber legt man eine dünne Schicht entfetteter Watte und über diese nochmals ein Drahtnetz. Mit Hilfe eines so hergestellten Filters gelingt die Filtration des Agars im Dampfstopf in kürzester Zeit, wenn der beim Klären entstandene Niederschlag sich vorher gut abgesetzt hat.

Man kann auch auf das Klären verzichten und das Agar im heißen, nicht kochenden Dampftopf absetzen lassen. Ist der Niederschlag zu Boden gesunken, so läßt man den Agar erstarren, lost ihn mit einem langen Messer von der Wand des Gefäßes ab und stülpt es um. Dann schneidet man den klaren Teil vom Bodensatz ab. Die klare Agarsäule wird in kleine Stücke zerschnitten, in Glaskolben im Dampftopf aufgelöst und, falls erforderlich, durch Wattefilter filtriert.

Nährgelatine

- 1 bis 4 wie bei Nährbouillon
- 5 Zusatz von 10 bis 15% Gelatine
- 6 Auflösen bei gelinder Wärme.
- 7 Neutralisieren (vgl. Nährbouillon Absatz 8)
- 8 Klären (vgl. Nähragar)
- 9 Kochen drei viertel Stunden
- 10 Prüfung der Reaktion
- 11 Filtrieren im Heißwassertrichter
- 12 Abfüllen in Reagenzgläser
- 13 Sterilisieren im Dampftopf an drei aufeinander folgenden Tagen je eine viertel Stunde.

Nach jedesmaligem Sterilisieren sofort im Eisschrank erstarren lassen und dann bei Zimmertemperatur halten.

Zur Herstellung der Nährböden kann anstatt Fleisch *Leibigs* Fleischextrakt in 1%iger Lösung verwendet werden.

Der Zusatz von Zucker (2%) Glycerin (6 bis 8%) und Farbstoffen zu den Nährböden erfolgt stets nach dem Filtrieren vor dem Abfüllen in Röhrchen.

Häufig ist es nötig dem Nährboden eine bestimmte Alkaleszenz zu geben. Dies geschieht am einfachsten durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nach der Indikatorenmethode von *Michaëlis*.

Pepton StimmLösung

Pepton a/lec	100·0
Kochsalz	100·0
Kaliumnitrat	1·0
Kristall kohlen. Natron	2·0
Aq. dest.	1000·0

In der Wärme lösen in K \ddot{o} lbchen zu je 100 cm^3 ab-
füllen sterilisieren

Herstellung der Peptonlösung

Von der Stammlösung wird eine Verdünnung von
1 + 9 Wasser hergestellt zu je 10 cm^3 in R \ddot{o} hrchen gefüllt
und sterilisiert!

Milch

Frische auf Lackmuspapier amphoter reagierende
entrahmte Milch wird in sterilisierte Reagensgläser gefüllt
und am ersten Tag eine Stunde an den beiden folgenden
Tagen je eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert.

Brot

Getrocknetes Brot wird fein zerrieben in *Erlenmeyer*-
sche K \ddot{o} lbchen gefüllt mit Wasser zu einem dicken Brei
angerührt und an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine
halbe Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Thiel'scher Nährboden

Pepton 1·0

Blutserum*) 10·0

Traubenzucker bzw. Lävulose 10.

Kochsalz 0·5

Lackmuslösung 5·0

Aq. dest. 100·0

Nach Herstellung des Lackmusneutralpunktes werden
3 cm^3 einer 1%igen Lösung von kristallinischem Soda zu-
gesetzt.

Über Bereitung des Nährbodens vgl. auch *Barszkow-*
sche Nährböden Seite 541

*) In allen Nährböden, die nach der Originalvorschrift Nutrose
enthalten wird diese durch 2-10% Blutserum oder Aschtes-
Lösung ersetzt, da Nutrose nicht zu haben ist.

Conradi Drigalski'scher Nährboden

Schwach alkalischer 3%iger Agar wird in Kolben oder Soxhletflaschen zu je 200 cm^3 abgefüllt und sterilisiert.

Zum Gebrauch wird er aufgeschmolzen je 200 cm^3 werden mit folgenden Lösungen versetzt

1 26 cm^3 Lackmuslösung (nach Kubel Tiemann) und 30 g Milhzucker

Die Lackmuslösung zehn Minuten kochen dazu 3 g Milhzucker schütteln bis zur Auflösung 15 Minuten kochen Nach Zusatz der Lackmuslösung muß der Schüttel schaum des Agars blauviolett sein. Ist das nicht der Fall dann wird die schwach alkalische Reaktion des Nährbodens durch vorsichtiges Zusetzen von 10%iger heißer steriler Sodalösung wieder hergestellt

2 2 cm^3 einer 0.1%igen frisch bereiteten Lösung von Kristallviolett B (Höchst) (vor dem Zusatz 15 Minuten kochen) Nach dem Mischen wird der Nährboden in Platten ausgegossen.

Die Herstellung der gefärbten Nährböden (*Conradi Drigalski* Endo Malachitgrünagar) wird sehr vereinfacht wenn man die von *Merck* hergestellten Tabletten verwendet die die Zusätze enthalten und zu dem aufgelosten Agar zugegeben werden

Lackmusagar nach Lents

Zu 2% schwach alkalischem Agar werden 13% Lackmuslösung und 15% der betreffenden Zuckerart zugefügt die vor dem Zusatz in der Lackmuslösung gelöst wird.

Endos Fuchsinagar

Lackmusneutraler Agar wird mit 10 cm^3 10%iger Sodalösung pro Liter alkalisiert zu je 200 cm^3 auf Flaschen abgefüllt und sterilisiert. Zum Gebrauch wird er aufgeschmolzen und auf zirka 60° abgekühlt dann kommen zu

Grünlösung I

Blutserum 10·0 Pepton 2·0 Traubenzucker 1·0 Milchzucker 5·0 Aqua dest. 100·0 Malachitgrün krist. chemisch rein 0·2%ige Lösung 1·0 Normalkalilauge 1·5

Grünlösung II

Blutserum 10·0 Pepton 2·0 Milchzucker 5·0, Normalkalilauge 1·5, Malachitgrün 120 2% 3 cm³, Aqua dest. 100·0

2 g Pepton werden durch Kochen im Dampftopf oder Wasserbad in 90 cm³ Aq. dest. gelöst dann wird der Zucker hinzugefügt und nach seiner Lösung nacheinander die Kalilauge das Blutserum und die Grünlösung Nach Abfüllen in Reagensgläser wird zehn Minuten im Dampftopf oder kochendem Wasserbad sterilisiert

V Lingelheims Lackmusasciteszuckeragar

Eine 10%ige Lösung der zu untersuchenden Zuckerart in Kubel Tiemannscher Lackmuslösung wird in Reagensgläsern zu je 10 cm³ zwei Minuten im Wasserbad bei 100° erhitzt Nach dem Abkühlen werden zu je 10 cm³ 0·5 cm³ n Sodalösung hinzugefügt. Hiervon werden 1·5 cm³ zu je 13·5 cm³ flüssigem Ascitesagar (1 Teil Ascites 3 Teile Agar) zugesetzt Der Nährboden wird dann in Petrischalen gegossen

Neutralrotagar nach Oldekop

1%iger schwach alkalischer Nähragar wird mit 1% konzentrierter wässriger Neutralrotlösung und 0·3% Traubenzucker versetzt zu 5 cm³ in Reagensgläser abgefüllt und sterilisiert.

Rhamnose Nährboden.

Dinatriumphosphat	0·5
Ammoniumsulfat	1·0
Natriumnitrat	2·0

Natriumchlorid	5·0
Pepton	0·05
Aqua dest.	1000·0

Nach Auflösung Zusatz von 50 Rhamnose (*Merck*)

Als Indikator dient 0·5%ige alkoholische Methylrotlösung von der den beimpften und 15 Stunden bei 37° bebruteten Röhrchen 2 Tropfen zugesetzt werden.

Fuchsinbouillon nach Stern

Zu 100 cm³ einer Bouillon die 1% *Liedigs* Fleisch extrakt 0·5% NaCl 2% Pepton enthält werden zu gesetzt 5 bis 6 Tropfen einer 1%igen, alkoholischen Fuchsinlösung 2 cm³ einer 10%igen Natriumsulfatlösung, 0·5 bis 1 g der gewünschten Zuckerart in etwas Wasser gelöst oder 1% Glycerin. Nach Abfüllen in Röhrchen zweimal eine halbe Stunde im Dampfstopf sterilisieren. Dunkel aufbewahren

Lackmusmolke.

Die *Petruschkysche* Lackmusmolke ist schwer herstellbar und wird daher zweckmäßig von der Firma *Schering Kahlbaum* bezogen. Da sie aber nicht immer gleichmäßig ausfällt empfiehlt sich die Verwendung der künstlichen Lackmusmolke von *Seitz*

Lactose	20·0
Glucose	0·4
Dinatriumphosphat	0·5
Ammoniumsulfat	1·0
Tertiäres Natriumcitrat	2·0
Kochsalz	5·0
Pepton „Witte“	0·05
Arothmin „Kahlbaum“	0·25
Aq. dest.	1000·0

*Barschew*scher Nährboden

Blutserum	10·0
Milchrucker	1·0
Kochsalz	0·5

Aq dest	90·0
Adde Lackmuslösung	5 0

Oder anstatt Milchzucker Traubenzucker 10 oder Traubenzucker und Milchzucker $\overline{\text{aa}}$ 10 oder 10 Mannit. Den Zucker in der Lackmuslösung das Kochsalz im Serumwasser lösen. Beide Lösungen zusammengießen auf Röhrchen abfüllen und 20 Minuten sterilisieren

Nährboden nach Hetsch

100 cm^3 Blutserum oder Ascitesflüssigkeit und 5 g Kochsalz werden mit 900 cm^3 Aq dest eine halbe Stunde, 50 g Lackmuslösung zusammen mit 20 g Mannit bzw 20 g Saccharose oder 25 g Maltose zehn Minuten lang gekocht. Nachdem beide Lösungen auf ungefähr 50° abgekühlt sind werden sie miteinander gut gemischt und in sterile Reagensgläser gefüllt die sogleich noch einmal eine viertel Stunde lang im Dampftopf sterilisiert werden.

Zum Zweck differentialdiagnostischer Untersuchungen wird die Nährflüssigkeit nach Beimpfung in sterile Gärungskölbchen gefüllt

Brillantgrünbouillon.

Stammlösung Brillantergrün (Kristalle extra rein Höchst) 1 1000 ohne Sterilierung dunkel aufbewahrt zwei bis drei Monate haltbar

Zu 100 Teilen natursaurer Bouillon (pag 67 bis 69) wird 1 Teil Stammlösung unmittelbar vor der Beimpfung zugesetzt Abfüllen in Röhrchen zu 10 cm^3

Tetrathionatbouillon nach Kaufmann.

1 Tetrathionatbouillon 90 cm^3 sterile Bouillon werden mit 45 g sterilisiertem Calciumcarbonatpulver versetzt und gut durchgemischt, dann werden der Reihe nach zugesetzt 10 cm^3 einer sterilisierten Lösung von Natriumthiosulfat pur 50 100 Aq dest. und 2 cm^3 Jodjodkal-Lösung (30 g Jod, 25 g Kalium jodatum Aq dest. 100).

2 500 cm^3 dieser Tetrathionatbouillon werden mit 5 cm^3 Brillantgrünlösung 1 1000 und 25 cm^3 steriler Rinder-galle versetzt Abfüllen in Röhrchen zu je 10 bis 15 cm^3 unter dauerndem Schütteln Eine halbe Stunde im Dampftopf sterilisieren Der frische Nährboden ist schwach grün und wird allmählich grünlichbraun.

Kartoffel-Glycerin-Blutagar nach Bordet-Gengou.

1 100 g in Scheiben geschnittene Kartoffeln werden mit 200 cm^3 4%igem Glycerinwasser gekocht, die Flüssigkeit wird abgeseigt

2 5 g Agar werden in 150 cm³ 0·8%iger Kochsalzlösung aufgelöst.

3 150 cm³ Agarlösung werden mit 50 cm³ Kartoffelglycerinabkochung gemischt, in Röhren gefüllt und sterilisiert. Vor dem Gebrauch werden vier Teile des Nährbodens mit einem Teil Blut gemischt.

Blutagar nach Schottmüller

Steril entnommenes durch Schütteln defibriertes Blut wird im Verhältnis 2 5 mit aufgeschmolzenem auf 50° abgekühltem Agar vermischt

Kochblutagar nach Levinthal

8%iger Agar dessen Alkaleszenz zwischen p_H 7·3 bis 7·5 liegen soll wird verflüssigt auf 60° abgekühlt ganz langsam unter dauerndem Schütteln mit 5% defibriertem Menschen oder Tierblut versetzt und gut durchgemischt. Das Gemisch wird im Dampfstopf unter maximaler Dampfentwicklung gekocht und zwar 1 l nicht länger als 5 2 l nicht länger als 8 bis 10 Minuten da überkochter Agar unbrauchbar ist. Werden kleine Mengen etwa 100 bis 200 cm³ Nährboden hergestellt so kann der Kolben auf dem Drahtnetz über offener Flamme erhitzt werden bis der Agar zu sieden und in den Kolbenhals zu steigen beginnt. Schnelles Abziehen von der Flamme und sofortiges Wiederholen des Abkochens über der Flamme unter Umschütteln. Das gekochte Blutagargemisch enthält grobe braunschwarze Gerinsel von denen der Agar durch ein Wattefilter aus gewöhnlicher Stopfwatte die im Heißluftschrank bis zu leichter Bräunung sterilisiert ist abfiltriert wird. Der Nährboden wird ohne erneute Sterilisation in Röhren abgefüllt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Bei Bedarf stellt man das Röhrchen zur Verflüssigung höchstens zweieinhalb Minuten lang in ein schon kochendes Wasserbad und gießt sofort in Platten oder zu Schrägröhren aus.

Nach der gleichen Methode wird Kochblutkollon her gestellt.

Blutagar nach Dieudonné

Rinderblut wird in großen, Glasperlen enthaltenden, sterilisierten Flaschen aufgefangen, defibriert und mit gleichen Mengen Normal

kalilauge versetzt diese Mischung wird drei Viertel Stunden lang gekocht und ist dann bei Aufbewahrung in fest verschlossenen Flaschen einige Monate haltbar.

Vou dieser Blutkalmischung werden drei Teile mit sieben Teilen neutralen 3%igen Agars vermischt und zu Platten gegossen. Die Platten müssen wenigstens 24 Stunden stehen und werden dann noch wenn nötig, durch halbstündiges Einstellen in den Brutofen getrocknet, ehe sie gebrauchsfertig sind. Über acht bis zehn Tage alte Platten sollen nicht mehr verwendet werden.

Sind brauchbare Dieudonnéplatten nicht vorrätig, so kann man sich sofort verwendbare Blutalkaliplatten nach Esch dadurch bereiten, daß man 5 g kaulliches Hamoglobin im Mörtel zerreibt, in 15 cm³ Normalnatronlauge + 15 cm³ destilliertem Wasser löst, diese Lösung eine Stunde im Dampftopf sterilisiert und von ihr 15 cm³ zu 85 cm³ neutralem Agar gibt.

Menschenblut Traubenzucker Agar nach Zeißler

Zu 80 cm³ verdünntem und auf 50–60° abgekühltem 2%igem Traubenzucker Agar setzt man 20 cm³ defibriniertes Menschenblut zu, schüttelt langsam und gießt von der Mischung Platten.

Hämoglobinagar

1. 10 g amorphes Hamoglobin (Merck, Darmstadt) werden in circa 100 cm³ Wasser und 35 cm³ 10%iger Kalilauge gelöst, eine Stunde im Dampftopf gekocht und noch heiß mit aufgeschmolzenem Agar von schwach alkalischer Reaktion im Verhältnis 1 : 7 gemischt.

2. Aus sterfl aufgefangenen durch Schütteln mit Glasperlen defibriniertem Blute wird durch mehrmaliges Gefrierenlassen und Wieder auftauen das Hamoglobin in Lösung gebracht und in kleiner Menge dem aufgeschmolzenen Agar zugesetzt.

Blutserum

Man gewinnt das Blut unter aseptischen Kautelen, indem man es aus einer in die Jugularis des Tieres eingestochenen Kanüle durch einen sterilen Gummischlauch direkt in einen sterilisierten, sicher verschließbaren hohen Glaszylinder strömen läßt. Das etwa bis zu zwei Drittel seiner Höhe mit Blut gefüllte Gefäß kommt sofort in den Eisschrank. Nach Gerinnung des Blutes wird der Blutkuchen mit einem sterilen Glasstab von der Glaswand abgelöst. Nach ein bis drei Tagen wird das abgeschiedene Serum mittels steriler Pipette entnommen und in Petrischalen (circa 20 cm³) und in Reagenzgläser (je 5 cm³) übertragen. Serum das nicht sofort verarbeitet wird, kann in einen sterilen Erlenmeyerkolben gefüllt und im Eisschrank aufbewahrt werden. Die Petrischalen und Reagenzgläser werden, um das Serum erstarren zu lassen, auf zwei Stunden in den auf 65 bis 70° eingestellten Thermostaten (Serumofen) gebracht. Das erstarrte Serum ist durchsichtig und von bernstein gelber Farbe. Durch Einstellen in den Brutschrank bei 37° wird dann die Sterilität des Nährbodens geprüft.

und des 3%igen Agars (beide bei 45 bis 55° C im Wasserbade erwärmt waren) hergestellt. Schichtdicke der Platten nicht mehr als 5 mm. Die fertige Platte ist rubin- bis burgunderrot und durchsichtig.

Indicator Tellurplatte nach Clawberg

a) In einen 200 cm³ Rundkolben werden 8 cm³ einer 2%igen wässrigen Stammlösung von Wasserblau (6 B extra P) mit 2 cm³ einer 2%igen wässrigen Stammlösung von Metachromgelb (II RD) zu 15 g Dextrose 0-0125 g Cystin sowie 0-15 g Natriumacetat gegeben und das Ganze in einem Wasserbad von 45° C durch häufiges Drehen des Kolbens erwärmt.

b) Das oben erwähnte Grundgemisch (siehe Tellurnährboden nach Clawberg) wird ebenfalls in einer Menge von 50 cm³ auf dem gleichen Wasserbade erwärmt.

c) In einem dritten Kölbchen werden 42 cm³ verflüssigtes 4%iges Fleischwasseragar von pH 7-2 auf 45° gebracht (in diesem Agar sind anstatt 5 g Kochsalz auf 1 l, 5 g Kochsalz und 2 g sekundäres Natriumphosphat verwandt.)

In der Zeit, in welcher Kölbchen b und c auf die erwünschte Wasserbadtemperatur gebracht sind, hat im Kölbchen a die nötige Lösung begonnen, so daß jetzt die Mischung von a, b und c unter kräftigem Umschütteln vorgenommen werden kann. Nach der Auflösung werden Platten gegossen.

Blutserum und Ascitesagar

Flüssiges Blutserum bzw. Ascitesflüssigkeit die entweder steril gewonnen oder durch diskontinuierliche Sterilisation an acht aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde bei 55° im Wasserbad (in der Zwischenzeit Aufenthalt im Brutschrank bei 37°) oder durch Filtration keimfrei gemacht sind werden auf 40 bis 50° erwärmt und mit 2 bis 3%igem Agar, Glycerinagar oder Traubenzuckeragar der im Wasserbade aufgeschmolzen und auf 50° abgekühlt ist im Verhältnis 1 : 2 gemischt. Das Gemisch gießt man in Petrischalen aus oder läßt es in Röhrchen schräg erstarren.

mit einem Löffel herausgenommen und abgebrannt. Mit steriler Pinzette werden sie an beiden Enden geöffnet. Ihr Inhalt (Eiweiß und Eigelb) wird in eine sterile Flasche mit Glasperlen entleert. Nach gründlichem Schütteln wird zu drei Teilen zirka ein Teil 5%ige natursaurer Glycerinbouillon (pH 6.8) zugesetzt hergestellt aus 1% *Liebig's* Fleischextrakt 1% Pepton 0.5% NaCl. Gut durchschütteln abfüllen in Röhrchen die auf eine halbe Stunde in den Eisschrank am besten bei 2 bis 3° gestellt werden und dann schräg gelegt in den kalten Koagulator kommen. Dieser wird zunächst mit großem Brenner bis 84° erhitzt dann mit kleiner Flamme weiter langsam bis 87°. Bei dieser Temperatur bleiben die Röhrchen noch eine viertel Stunde. Zu jedem Röhrchen wird 0.5 cm³ künstliches Kondenswasser in Form von natursaurer Bouillon ohne Glycerin zugesetzt. Schließlich kommen die Röhrchen zur Prüfung auf Sterilität 48 Stunden in den Brutschrank bei 37°.

Aminoessernährboden nach *Hohn*

1 In 500 cm³ zirka 80° warmem Aq. dest. werden der Reihe nach einzeln aufgelöst

Natr. phosphoric. Na_2HPO_4 nach <i>Sorensen</i>	1.5
Kal. phosphoric. KH_2PO_4 nach <i>Sorensen</i>	2.0
Magnesiumsulfat	0.3
Magnesiumcitrat	1.25
Alanin	2.0
Asparagin	3.0

Dazu kommen 60 cm³ Glycerin. Abkühlen der Lösung auf 20° und Abfüllen in 100 cm³ Kölbchen zu 80 cm³. Zweimal im Dampftopf je 35 Minuten sterilisieren. Wattestopfen abtrocknen und zum Schutze gegen Verdunstung mit Papierhülle überbunden. Aufheben dieser „synthetischen“ Lösung im Eisschrank.

2 Zu 80 cm³ der synthetischen Flüssigkeit kommen vor dem Gebrauch 5 cm³ einer 0.7%igen Malachitgrünlösung (Malachitgrün Standard I C Farben)

3 Zu einer Nährbodenserie werden gebraucht 165 cm^3 Einnischung (aus vier Eiern) die in einer sterilen Flasche mit Glasperlen durch Schütteln homogenisiert wird. Dazu 50 cm^3 synthetischer Lösung der Malachitgrün zugesetzt ist (1 6)

4 Abfüllen zu zirka 6 bis 7 cm^3 in sterile Röhrchen, die eine halbe Stunde lang im Kühlschrank am besten bei 2 bis 3° gehalten werden Einbringen in den Koagulationschrank der bis 83° erwärmt wird Von 79° an gerechnet bleiben die Röhrchen 30 Minuten im Schrank Nicht genügend koagulierte Röhrchen kommen in den Schrank zurück. Man läßt die Temperatur wieder auf 83° kommen und hält die Röhrchen nochmals 10 bis 15 Minuten im Apparat

Schließlich wird in jedes Röhrchen zirka 0.8 cm^3 Kondensbouillon (naturaure Bouillon ohne Glycerin) (vgl. S 547) eingefüllt die man an der dem Nährboden entgegengesetzten Seite herablaufen läßt Die Stopfen werden mit heißem schäumendem Ceresin getränkt. Sterilitätsprüfung

Bierwürzenährhöden.

Bierwürze läßt man nach der Sterilisation im Dampftopf längere Zeit absetzen gießt dann die überstehende klare Flüssigkeit in Röhrchen und sterilisiert nochmals. Durch Zusatz von 10% Gelatine oder 2% Agar bereitet man Bierwurzelgelatine bzw Agar Der Nährboden wird nicht neutralisiert

Gehirnnährboden nach v Hsler

Das aus der Leiche entnommene Gehirn wird sogleich durch eine Fleischzerkleinerungsmaschine getrieben mit destilliertem Wasser versetzt bis ein halbflüssiger Brei entsteht und in sterile Kölbchen gebracht Der Brei soll etwa vier Fünftel des Kölbchens erfüllen Dann wird in der üblichen Weise sterilisiert Vor dem Gebrauch kocht man den

Nährboden eine halbe Stunde und bringt dann nach schneller Abkühlung den Impfstoff mittels Capillare in seine tiefsten Schichten

Trypsinbouillon.

1 l Bouillon die 1% Pepton, 0.5% NaCl und 7 cm³ n Sodalösung ab Lackmusneutralpunkt enthält wird auf 40° erwärmt, mit 0.2 g Trypsin Grübler 10 cm³ Chloroform und 5 cm³ Toluol versetzt tüchtig geschüttelt und 24 Stunden im Brutschrank angedaut durch ein feuchtes Filter gegossen vierfach (1+3) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und zu etwa 5 cm³ auf Röhrchen abgefüllt eine Stunde im Dampftopf sterilisiert.

Alle Nährböden müssen vor ihrer Verwendung zu Züchtungsversuchen auf Keimfreiheit geprüft werden. Sie werden zu diesem Zweck auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Gelatinekulturen dürfen nur einer Bruttemperatur von 20 bis 25° ausgesetzt werden.

Für kleinere Laboratorien sind die käuflichen Nährbodenpulver von *Marck* und *Derr* sehr zu empfehlen die zur Herstellung des Nährbodens nur im Wasser aufgelöst werden. Gebrauchsanweisung liegt den Packungen bei.

Die gebräuchlichsten Kulturmethoden

Anlegen aerober Kulturen.

Gelatineplattenkulturen

Drei Röhrchen mit Gelatine werden bei einer Temperatur von 30 bis 35° im Wasserbad verflüssigt. Eines von ihnen faßt man am Knippenende zwischen Daumen und Zeigefinger der mit der Volarseite nach oben gekehrten linken Hand hält es möglichst schräg dreht den Wattlepfropfen heraus und nimmt ihn derart zwischen dritten und vierten Finger der linken Hand daß der im Reagensglas gewesene Teil die Hand nicht berührt. Dann wird mit der schreibfederähnlich gefaßten ausgeglichen und wieder ab-

gekühlten Platinöse das Impfmaterial in die Gelatine übertragen. Flüssiges Material wird direkt in die Gelatine ausgeschüttelt festes an der Innenwand des Glases an der Grenze der Nährbodenoberfläche verrieben und allmählich in die Gelatine gesplült. Nachdem der Wattepfropf abgebrannt und wieder aufgesetzt ist wird durch vorsichtiges Neigen und Drehen des Glases das eingebrachte Material möglichst gleichmäßig in dem flüssigen Nährboden verteilt ohne daß dabei die Gelatine den Watteverschluß berührt. Darauf faßt man das Röhrchen wieder in der oben geschilderten Weise legt ein zweites parallel daneben öffnet beide und überträgt aus dem ersten je nach dem Bakteriengehalt des Untersuchungsmaterials eine bis mehrere Ösen seines Inhaltes in das zweite verschließt dann wieder die Reagensgläser stellt das erste Röhrchen in das Wasserbad zurück und überimpft aus dem zweiten nachdem dessen Inhalt vorsichtig vermischt ist mehrere Ösen in ein drittes Röhrchen. Dann gießt man die geimpfte Gelatine nach Abheizen und Wiederabkühlen des Röhrchenrandes in drei sterile Petrischalen aus deren Deckel dabei nur an einer Seite soweit als nötig geöffnet wird vermischt den Inhalt nochmals durch vorsichtiges Hin und Herneigen bezeichnet die Schalen mit O (Originalplatte) I und II (erste und zweite Verdünnung) und dem Datum der Impfung läßt sie auf Eis erstarren und bringt sie in den auf 22° eingestellten Thermostaten oder läßt sie bei Zimmertemperatur stehen.

Agarplattenkulturen

Agar kann in derselben Weise geimpft werden wie Gelatine doch muß er in kochendem Wasser aufgeschmolzen und vor der Impfung auf 50° abgekühlt werden.

Oberflächenkulturen

Das Untersuchungsmaterial wird mit der Platinöse auf die Oberfläche des in Petrischalen ausgegossenen und erstarrten Nährbodens gebracht und mit dem parallel der

Oberfläche umgebogenen Platindraht oder einem recht winklig gebogenen in heißer Luft oder durch Abbrennen mit Alkohol sterilisierten Glasspatel nach allen Richtungen hin gleichmäßig verteilt. Ist das Impfmateriel reich an Bakterien so ist es erforderlich um isolierte Kolonien zu erhalten es entweder zuerst in einer sterilen Flüssigkeit (physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon) aufzuschwemmen und eine Öse der Aufschwemmung zur Aussaat zu bringen. Oder man geht so vor daß man das Untersuchungsmateriel mit der Öse auf eine Platte bringt es mit einem Glasspatel auf der Platte verteilt und dann mit demselben Glasspatel ohne ihn nochmals mit dem Untersuchungsmateriel in Berührung zu bringen nacheinander über mehrere (zwei bis drei) Platten ausstreicht. Man kommt mit zwei Platten aus wenn man das Untersuchungsmateriel auf der ersten Platte mit dem Spatel gründlich verstreicht und den Spatel über die zweite Platte nur einmal hinwegführt. Vor der Impfung werden die Platten um das Kondenswasser verdunsten zu lassen umgekehrt und offen einige Zeit in den Brutschrank gestellt. Zur Impfung wird die Petrischale ebenfalls umgekehrt aufgestellt, die Schale wird vom Deckel genommen und während der Nährboden nach unten steht mit dem Untersuchungsmateriel besäet.

Strichkulturen.

Mit der mit Untersuchungsmateriel besäeten Platinöse wird nebeneinander eine Anzahl paralleler Impfstriche auf der Oberfläche des Nährbodens gemacht. Die Mehrzahl der ausgesäeten Keime bleibt schon beim ersten Strich am Nährboden haften bei einem der folgenden Striche gelangen dann so wenig Keime zur Aussaat daß sich dem Impfstrich entlang isolierte Kolonien entwickeln.

Impfung der schräg erstarrten Nährböden (Agar Blutserum usw)

Eine geringe Menge des Untersuchungsmaterials wird mit der Platinöse bei möglichst schräger Haltung der Röhre

chen auf der Oberfläche des Nährbodens verteilt. Zur Erzielung isolierter Kolonien wird dieselbe Öse auf mehreren Röhrchen hintereinander ausgestrichen

Stichkulturen.

Man sticht bei horizontaler Haltung des Röhrchens mit einer mit Bakterien beschickten Platinnadel senkrecht in den gerade erstarrten Nährboden ein

Schüttelkulturen.

Man schmilzt den Nährboden im Wasserbad auf (Agar auf 50° abkühlen lassen) trägt eine Öse des Impfmateri als ein schüttelt gut um und läßt den Nährboden in senkrechter Stellung des Röhrchens erstarren

Die Impfung flüssiger Nährböden geschieht ebenso wie die der aufgeschmolzenen Gelatine.

Anlegen anaerober Kulturen.

Den Nährböden die zur Zucht ung anaerob wachsender Bakterien dienen sollen werden reduzierende Substanzen wie 1 bis 2% Traubenzucker oder 0.3 bis 0.5% Ameisensäures Natron oder 0.1% Indigschwefelsäures Natron zugesetzt. Am meisten in Gebrauch sind Blutagarplatten mit 5 bis 10% Blut und die Zeisslersche Traubenzucker Blutagar Platte mit 2% Traubenzucker und 16 bis 20% Menschenblut. Die Blutplatten werden vor der Verwendung 24 Stunden im Brutschrank gehalten

Zur Züchtung unter Luftabschluß stehen verschiedene Methoden zur Verfügung

Impfung in hoher Schicht Die hoch gefüllten Agarröhrchen werden zur Austreibung der Luft eine halbe Stunde im Wasserbad gekocht schnell abgekühlt und mit dem Untersuchungsmaterial infiziert. Zur gleichmäßigen Verteilung des Impfmateri als werden die Röhrchen in senkrechter Lage zwischen den Handflächen

gerollt. Nach schnellem Erstarren (in Eiswasser) erfolgt Überschiebung mit heißem Agar. Zur Untersuchung muß die Agarsäule aus dem Reagensglas entfernt werden. Dies geschieht am einfachsten indem man die Kuppe des Reagensglases vorsichtig erwärmt, dann gleitet die Agarsäule allmählich heraus und wird in einer sterilen Schale aufgefangen. Zur Untersuchung wird der Nährboden mit sterilem Messer in Scheiben geschnitten.

Zur Fortzucht von Reinkulturen bedient man sich der Stichkultur in hochgefüllte ausgekochte und schnell auf Eis wieder erstarrte Nährböden, die ebenfalls nach der Impfung mit sterilem Nährboden überschichtet werden. Die Impfung muß mit einer langen bis in die tiefen Schichten reichenden Nadel geschehen.

Von Stichkulturen wird das Untersuchungsmaterial von oben her aus den tieferen Partien entnommen.

Eine sauerstofffreie bzw. sauerstoffarme Atmosphäre kann durch Entfernung der Luft mittels Luftpumpe, z. B. unter Benutzung der *Zeisslerschen* Anaerobenapparate durch Ersatz der Luft durch Wasserstoff (*Hofmacherscher* Apparat) durch Absorption des Sauerstoffes der Luft durch alkalische Pyrogallollösung hergestellt werden.

Von *Lents* und anderen sind besondere Anaerobplatten angegeben worden, die eine Hohlrinne besitzen, in die ein mit alkalischer Pyrogallollösung getränkter Filterpapier bzw. Watte eingelegt wird. Man gibt in die Hohlrinne 1 g Pyrogallol und setzt kurz vor dem Schließen der Schale 10 cm³ 10%ige Kalilauge zu. An Stelle der Kalilauge wird besser kalt gesättigte Sodaauslösung (1 cm³ je Schale) verwandt, dazu 15 bis 2 g Pyrogallol. Man kann auch gewöhnliche Doppelschalen benutzen. Die obere Schale enthält den zu beimpfenden Nährboden (15%igen Blutagar), die untere mit 4 cm³ gesättigter Soda-lösung getränkte Watte und 1 bis 2 g Pyrogallol. Alle Schalen werden mit Plastilin luftdicht verschlossen. Die

Kulturschale kann auch mit Plastilin luftdicht auf eine Glasplatte montiert werden die zwei Filzpaperscheiben trägt die mit 1 cm^3 Sodalösung bzw 1 g Pyrogallol beschickt sind. Zur Weiterimpfung von Anaerobiern auf schräg erstarrten Blutagarröhrchen wird der Verschuß in folgender Weise hergestellt. Der abgeschnittene Wattebausch wird bis fast auf die Kultur heruntergestoßen darüber kommt ein Bausch hydrophiler Watte, der mit je 0.5 bis 1 cm^3 20%iger Pyrogallollösung und gesättigter Sodalösung getränkt ist dann erfolgt sofortiges Verschießen mit gut passendem angefeuchtetem Gummi stopfen.

Auf der Beobachtung daß anaerobe Bakterien in Mischkulturen mit aeroben Keimen gut wachsen beruht das Verfahren von *Fortner*. Auf derselben Platte wird neben den zu züchtenden Anaerobiern in dicken Impfstreichen eine *Prodigosuskultur* aufgetragen die als Sauerstoffverzehrer dient. Der Nährboden (Blutagar) wird durch Ausschneiden eines schmalen Streifens in zwei Teile geteilt von denen der eine dick mit der *Prodigosuskultur* der andere mit dem Anaerobier beimpft wird. Die Schale die nicht über 1 cm hoch sein soll wird mit einer Glasplatte bedeckt und luftdicht mit Plastilin verschlossen. Man kann auch die von *Gildemeister* und *Dold* angegebenen Kulturschalen verwenden die durch eine oder mehrere Scheidewände geteilt sind. In die Mulden zwischen den Scheidewänden wird der Nährboden ausgegossen. *Holder* empfiehlt besonders zur Fortzucht der Anaerobier Eprouvetten die durch eine eingblasene Scheidewand in 2 Teile geteilt sind. Zunächst wird in die eine Hälfte der Röhrchen Nährboden gefüllt und schräg gelegt bis der Agar erstarrt ist. Dann wird dasselbe mit der zweiten Hälfte vorgenommen. Der eine Schrägagar wird mit der *Prodigosuskultur* der andere mit den anaeroben Keimen beimpft. Das Röhrchen mit paraffiniertem Wattestopfen verschlossen. †

Zur Anaeroben-
boden is in flüssige

Gebrauch Als Nährboden benutzt man Leberbouillon, die in folgender Weise hergestellt wird. Stückchen von Meerschweinchen oder Kaninchenleber von 1 bis 3 g Gewicht werden mit der dreifachen Menge Bouillon 30 Minuten im Dampftopf gekocht dann wird die Bouillon durch ein Faltenfilter abfiltriert zu je 8 bis 10 cm^3 auf Reagensgläser abgefüllt und jedes Reagensglas mit zwei bis drei Leberstückchen besetzt die vorher auf einem groben Sieb unter der Wasserleitung abgespült worden sind. Dann wird in der üblichen Weise sterilisiert. Anstelle der Organstückchen ist auch Platinschwamm empfohlen worden für je 10 cm^3 Bouillon 1 g. Die Röhrchen werden zehn Minuten gekocht und sofort beimpft. Eine Übersichtung mit flüssigem Paraffin oder Vaselin ist nicht erforderlich. Sie ist zu empfehlen zur Feststellung der gebildeten Gasmenge. Die Weiterimpfung geschieht mit Glascapillaren die bei Übersichtung mit geschlossener Spitze durch die Verschlussschicht durchgeführt werden. Durch Druck gegen den Boden des Reagensglases wird die Spitze der Capillare abgebrochen.

V Die Prüfung der biologischen Eigenschaften der Bakterien

Der Nachweis peptonisierender Fermente erfolgt durch Gelatinestichkultur. Gelatine wird durch Einwirkung des peptonisierenden Fermentes verflüssigt.

Der Nachweis des Gärungsvermögens wird durch Stichkultur oder Schüttelkultur in Zuckeragar oder durch Impfung in Zuckerbouillon die in Gärungskölbchen gefüllt ist geführt. Im Lufttrockenschrank sterilisierte Gärungskölbchen werden mit steriler 2%iger Traubenzuckerbouillon gefüllt und vor der Benutzung noch mehr eine halbe Stunde in strömenden Dampf erhitzt.

Nachweis von Säure- und Alkalibildung geschieht durch Zusatz eines Indikators z. B. Lackmustinktur zum neutralisierten Nährboden.

Nachweis der Indolbildung vgl. Seite 123

Nachweis von Schwefelwasserstoffbildung Ein Stückchen angefeuchtetes Bleipapier das durch Tränken von Fließpapier mit einer Lösung von basischem Bleiacetat oder alkalischer Bleilösung und darauf folgendem Trocknen an der Luft hergestellt ist wird zwischen Wattepfropf und Kulturröhrchen eingeklemmt so daß es in das letztere hineinragt. Schwarzfärbung des Papiers zeigt H_2S -Bildung an

Nachweis des Reduktionsvermögens. Den sterilisierten Nährböden wird ein Farbstoff zugesetzt der sich durch Reduktion entfärbt (Methylenblau Lackmuslösung Neutralrot)

Prüfung auf Sauerstoffbedürfnis. Anlegen von Kulturen in hoher Schicht (vgl. Seite 552)

Prüfung auf Giftbildung Nachweis extracellulärer Gifte Die Kulturflüssigkeit welche die Gifte gelöst enthält wird keimfrei filtriert*) und Versuchstieren in abgemessener Dosis injiziert. Nachweis intracellulärer Gifte Die Bakterien werden auf festen Nährböden gezüchtet mit einer Normalöse (2 mg Inhalt) ohne Beimischung vom Nährboden entnommen in einer abgemessenen Menge steriler Flüssigkeit aufgeschwemmt und abgetötet. Von dieser Aufschwemmung wird eventuell nach weiterer Verdünnung eine bestimmte Menge zum Tierversuch benutzt. Auf diese Weise kann man eine ganze, eine hundertstel, eine tausendstel usw. Öse injizieren

Die Abtötung der Bakterien erfolgt durch ein bis zweistündiges Einstellen in ein Wasserbad von 55 bis 60° oder durch Chloroformdämpfe. Der Wattepfropf der Kulturröhrchen wird an seiner Unterseite mit Chloroform be-

*) Man benutzt zum Filtrieren keimsichte Filter (Chamberlandfilter, Kieselgurfilter, Filter aus Infusorienerde nach Zsigmondy usw.), durch welche die Flüssigkeit mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe durchgesaugt wird.

feuchtet dann werden die Röhrchen mit doppelter Gummikappe verschlossen und eine bis mehrere Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten. Vor Anstellung des Versuches wird die Abtötung der Bakterien durch Überimpfung auf einen anderen Nährboden der steril bleiben muß festgestellt.

VI Methoden des Tierversuches.

Cutane Impfung

Das Untersuchungsmaterial wird mit einem sterilen Instrument in die rasierete desinfizierte und von dem Desinficiens wieder befreite unverletzte oder leicht scarifizierte Haut eingelesen.

Intracutane Impfung

Das Untersuchungsmaterial wird mit einer mit sehr feiner Kanüle armierten Spritze in die Haut injiziert. Nach vollendeter Einspritzung muß die Oberhaut sich blasenförmig abheben.

Subcutane Impfung

a) Impfung durch Einspritzung. Flüssiges Impfmaterial wird direkt festes nach Aufschwemmung in steriler physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon mit Pravasscher Spritze subcutan injiziert.

b) Impfung in eine Hauttasche. Die Haut wird nach der Desinfektion mit einer Pinzette aufgehoben, in die entstehende Falte wird mit der Scherenspitze ein Einschnitt gemacht und das Untersuchungsmaterial in die Hauttasche geschoben. Die Wunde wird wenn nötig mit Kollodium verschlossen. Bei Mäusen und Ratten impft man in der Regel dicht oberhalb der Schwanzwurzel. Meeresschweinchen an der Bauch oder Brustseite, Kaninchen an der Innenseite des Ohres.

Impfung in die großen Körperhöhlen

Nachdem die Haut mit einem kleinen Scherenschnitt gespalten ist wird das Impfmateriel mit einer mit stumpfer Kanüle versehenen Spritze injiziert. Am Bauch wird in der Mittellinie an der Brust am oberen Rand einer Rippe eingestochen

Impfung in die Blutbahn

Bei Kaninchen injiziert man in eine der großen Randvenen des Ohres. Das Ohr wird mit warmem Wasser abgerieben die Haare werden abgerupft und das Ohr wird an der Ohrwurzel komprimiert, eventuell noch mit Xylol abgerieben wodurch die Venen stärker hervortreten. Bei Mäusen wählt man die Schwanzvene nach Erweiterung der Gefäße durch Aufträufeln von Xylol oder Eintanchen des Schwanzes in heißes Wasser bei größeren Tieren die Vena jugularis

Intrakardiale Impfung

Die Kanüle wird im dritten oder vierten Intercostalraum links neben dem Sternum eingestochen. Sitzt die Kanüle im Herzen so gelingt es leicht Blut ohne Luftblasen zu aspirieren. Dann injiziert man die Flüssigkeit die Körper warm sein muß langsam und überzeugt sich durch nochmaliges Ansaugen von Blut daß die Kanüle während der Injektion im Herzen war. Bei Meerschweinchen soll die Menge der injizierten Flüssigkeit 1 cm^3 nicht überschreiten

Impfung in das Auge.

Bei Impfungen in die Cornea wird diese nach Cocainisierung des Auges mit einer sehr feinen Nadel geritzt und das Untersuchungsmateriel eingegeben.

Impfung in die vordere Augenkammer
Nach Narkotisierung des Versuchstieres oder Cocainisierung des Auges wird am oberen äußeren Rande der Cornea mit einer Lanzette eingegangen, während das Auge mit einer Pinzette nach unten gehalten wird. Um

Irisverletzungen zu vermeiden, muß die Spitze der Lanzette nach der Cornea gerichtet sein. Das Impfmateriel wird mit einer Irispinzette oder Spritze in die vordere Augenkammer gebracht. Das Impfmateriel kann auch direkt in die vordere Augenkammer injiziert werden. Der Einstich erfolgt dann nahe dem Limbus. Kaninchen kann man 0.2 bis 0.3 Meer-schweinchen 0.1 bis 0.2 cm^3 Flüssigkeit einspritzen.

Impfung durch Fütterung

Das Untersuchungsmateriel wird mit Nahrungsmitteln vermischt verfüttert oder dem Tier mittels Schlundsonde beigebracht (siehe auch Seite 128)

Sachverzeichnis

(Die Ziffern bedeuten die Seitenzahlen.)

- Abgekürzte Granfärbung 320
 Abnorme Blutzellen 323
 Acetessigsäure 187
 — Bestimmung im Blute 367
 — — im Harn 328
 Aceton 180, Bestimmung im Harn
 329 im Blute 367
 Acholon Schindler 500
 Acidität des Harnes 157
 — des Mageninhaltes 87
 Additativkurven 68
 Aerobe Kulturen 548
 Agarnährboden 535
 Agglutination 305
 Agranulocytose 338
 Aktinomyceskörner 30
 Aktinomykose 495
 Albumosen 171
 Aldehydreaktion Ehrliche 192
 Aleukämische Leukämie 335
 Alkohreserve 454
 Alkapton 186
 Alkohol, Micromethode für Blut 370
 Alkoholprobebruststück 56
 Alveolarepithelien 31
 Amboceptor 418
 Aminosäurenährboden nach Hohn
 547
 Ammoniakbestimmung im Harn
 326
 Amöben in den Faeces 87 bes 92
 Amylase, Bestimmung in den
 Faeces 110
 — im Blute 428
 — im Harn 390
 Anaerobe Kulturen 558
 — — im Blut 335.
 Anämien 330
 Anchylostoma duodenale 99
 Angina Vincenti (s. Plauti) 12
 Anilinwasser 525
 Anthraxbacillen 494
 Antiforminverfahren 39
 Antiformin-Ligroinverfahren 40
 Antigen 415
 Antipyrin im Harn 203
 Apparat zur Entnahme von Be-
 lagen 1
 Arnoldsche Probe auf Acetessig-
 säure 188
 Arsen im Harn 202
 Ascaris lumbricoides 97
 Ascheum-Zoodekache Schwinger
 schaffsreaktion 291
 Aschensagar 546.
 Aschensomillon 548
 Ascorbin-Lachmus-Zuckersagar 15
 540
 Aukmakristalle 33
 Atoxylfeste Lipase 453
 Ausstrichpräparate Herstellung
 und Färbung 518
 Azeton-Azetessigsäure siehe Aceton-
 Acetessigsäure
 AzospERMIE 377
 Babes-Ernsteche Körperchen 2
 Bacillus botulinus 156
 — Breslau Aertryke 126
 — enteritidis 126
 — faecalis alcaligenes 120 262
 — formosus 18
 — histolyticus 491
 — Novy 490
 — des malignen Ödems 490
 — der Putridusgruppe 491
 — procyanus 52 267
 Bacterium coli im Harn 361
 — lactis aerogenes 362
 — Paracoli 362
 Bakteriologische Untersuchung des
 Auswurfes 34
 — — des Hutes 375
 — — des Conjunctivalsekretes 20
 — — bei Erkrankungen der Haut
 459
 — — der Faeces 117
 — — des Harnes 200
 — — des Nasensekretes 18
 — — der Punktionsflüssigkeiten
 453
 — — der Sekrete und Beläge des
 Mundes und Rachens 1
 Balantidium coli 93
 Bandwurm in den Faeces 93.
 Bang Bacillen 293
 Baruckows Nährböden 122 541
 Basophile Leukocyten 322
 Bechers Xanthoproteinprobe 288
 Beläge des Mundes und Rachens 1
 Belastungsprobe auf Zuckertoleranz
 257
 Bence-Jonescher Eiweißkörper 172

- Benzidinprobe 103, 195
 Bierwurze Nährboden 548
 Bilirubin in den Faeces 107
 — im Harn 300
 — in Gallensteinen 114
 — im Harn 193 245
 Bindegewebe in Faeces 79
 Biologische Eigenschaften der Bakterien Prüfung 555
 Buretreaktion 172
 Blastomykose 509
 Blei Nachweis im Harn 200
 Bleivergiftung Anämie nach 323
 Blut in den Faeces 102
 — im Harn 194
 — im Mageninhalt 82
 Blutagar 543
 Blutbild bei Infektionskrankheiten 338
 Blutgerinnungszeit 295
 Blutgruppen 444
 Blutkörperchen, Zählung 309
 Blutkörperchenresistenz 298
 Blutkörperchensenkung 299
 Blutkuchenretraktion 302
 Blutplättchen 323
 Blutpräparate Färbung 315
 Blutsrum als Nährboden 544
 Blutsrumagar 545
 Blutungszeit, Bestimmung der 302
 Blutuntersuchung 293—459
 Blutzellen Morphologie 319
 Boraxmethylenblau 519
 Bothrioccephalus latus 96
 Botulismus 188
 Bouillon Nährboden 534
 Brandbergsche Methode der Eiweißbestimmung 207
 Brillantgrün-Nährboden 542
 Brompräparate im Harn 203
 Brot als Nährboden 537
 Buttersäure im Mageninhalt 59
 Calciumbestimmung im Harn 383
 Calciumcarbonat 241
 Calciumsalz 241
 Cellulose 85
 Cercomonas intestinalis 92
 Charcot Leydensche Kristalle 39, 86
 Chinin im Harn 204
 Chininfeste Lipase 553
 Chloride im Blut 359
 — im Harn 221
 Choleraerkrankung 145
 Cholesterin, Bestimmung im Harn 308
 — in Gallensteinen 114
 — im Harn 244
 Chrysophansäure 203
 Citocholreaktion 431
 Clauberger Indicator Nährboden 549
 — Tellurnährboden 545
 Colicintrunk 56
 Conjunctivalsekret 20
 Conradi Drigalskis Nährboden 124 538
 Curschmannsche Spiralen 20, 28
 Cylinder im Harn 253.
 Cylindroide 255
 Cystin 244
 Cytologische Untersuchung der Punktate 472, 478
 Darmgrieß 116
 Darmparasiten 87 101
 Darmsteine 116
 Dermatomykosen 498
 Diastase im Harn 449
 — in den Faeces 110
 — im Harn 290
 Diazoreaktion 198
 Dicke Blutropfenmethode 576
 Dieudonné's Nährboden 543
 Diphtheriebacillen 1—10
 — im Conjunctivalsekret 20
 — Färbung 522
 — Nasensekret 18
 — Tierversuch 5
 — Typen 8
 Diplobacillus Friedländer 19 51
 — Morax Axenfeld 21
 Diplococcus crassus 17
 — flavus 17
 — siccus 17
 Dittichsche Pflöpfe 20
 Dutreysche Bacillen 498, 532
 Duodenalininhalt 70
 Dysenteriebacillen 187
 Echinokokkusbestandteile im Harn 258
 — im Sputum 29
 Echinokokkuscysten 471
 — Nachweis durch Komplementbindung 448
 Echinokokkushaken 29
 Eier von Darmparasiten 100
 Eiernährboden nach Hohn 547
 — nach Lubenau 546
 Eiweißbestimmung im Harn 207

- Eiweißbestimmung Nachweis 167
 — in Punktionsausgüssen 478
 Eiweißanalys im Darm 118
 Eiweißkörper durch Essigsäure in
 der kalte fällbare 178
 — im Harn 166
 Elastische Fasern im Auswurf 32
 Endolimax 90
 Endos Fuchsmagar 538
 Entamoeba 88
 Enteiweißung des Harnes 174
 Enterokokken 265
 Enterolithen 118
 Eosinophile Leukocyten 321
 Epidermophyten 567
 Epithelien in den Faeces 86
 — im Harn 247
 — im Sputum 81
 Ertrockenes 89
 Erythrasma 508
 Fäbicha Methode der Eiweiß-
 bestimmung 208
 Essigsäure im Mageninhalt 59
 Exsudate 469
 Fadenpilze Färbung 527
 Faecesuntersuchung 78
 Faktoren M, N und P bei der Blut-
 gruppenbestimmung 445
 Farbreaktion 318
 Färbemethoden und Färbungen
 319
 Favus 500
 Fehlingsche Probe 179
 Fermentnachweis in den Faeces 109
 Ferrocyankaliumprobe auf Eiweiß
 169
 Fett, Bestimmung 111
 — in den Faeces 85
 — im Harn 156, 245
 Fettbestimmung in der Milch 281
 Fettsäure, flüchtige im Magen-
 inhalt 59
 Fettsäuremoleküle in den Faeces 85
 — im Harn 245
 — im Sputum 85
 Fibrin im Harn 252
 Fibringerinnung im Sputum 25 27
 Fickers Diagnostikum 405
 Fixieren der Präparate 318
 Flagellaten in den Faeces 92
 Florence-Reaktion 260
 Flächenvergiftungen 136
 Flockungsreaktion, Citocholreaktion
 481
 — nach Kahn 432
 Flockungsreaktion nach Meinicke
 433
 Flüchtige Fettsäuren im Magen-
 inhalt 59
 Formaldehyd im Harn 206
 Frankelscher Gasbocillus 490
 Fraktionsweise Ausheberung des
 Mageninhalt 66
 Frauenmilch 280
 Freie Salzsäure 58 63
 Fruchtzucker 184
 Fuchsinagar Endos 538
 Fuchs Labbestimmung 81
 Funktionelle Nierendiagnostik 285
 Galaktose 210
 Gallenfarbstoff im Blute 390
 — in den Faeces 107
 — im Harn 193
 — im Mageninhalt 62
 Gallenkonkremente 114
 Gallenkultur 290
 Gallensäure in den Faeces 109
 Gallensteine 114
 Gametocyten 277
 Gärerische Bacillen 126
 Gärungskatastrophe 118
 Gärungsmethode nach Kowarski 211
 — nach Roberts 210
 Gärungsprobe auf Zucker 180
 — nach Schmidt 112
 Gasbrand 490
 Gebundene Salzsäure, Bestimmung
 64
 Gefrierpunktbestimmung des Blutes
 299
 — des Harnes 163
 Gehirnährboden 545
 Geißelfärbung 525
 Gelatinenährboden 536
 Geruchstarr 14, 488
 Gerhardtische Probe auf Acetessig-
 säure 188
 Gerinnungsfähigkeit des Blutes 295
 Gesamtschicht des Mageninhalt 63
 Gesamtschicht des Blutes 247
 — der Faeces 111
 — des Harnes 218
 Geschwulstpartikel im Faeces 81
 — im Harn 259
 Gewebefetzen im Sputum 25 28
 Griesche Färbung 215, 378
 Griesche Modifikation der Nelser
 Färbung 523
 Glukuronsäure 186
 Glycerinserum 545

- Goldsolreaktion 178
 Gonokokken 10
 — im Conjunctivalsekret 20
 — Färbung 521
 — im Harn 261
 — im Harnrohrensekret 2 1
 — Züchtung 272
 Gram Färbung 519 531
 Granulom malignes 336
 Gruber Widalsche Reaktion 102
 Grunungsprobe 159
 Grunungen, Löfflers 121 310
 Guajacprobe 103
 Guinzburgsche Reaktion auf HCl_2 38
 Haare Untersuchung 488
 Hafersteine 115
 Hagedorn und Jensens Zuckerbestimmung 351
 Haines Reaktion 180
 Hamatoporphyrin s. Porphyrin
 Hammarstens Probe auf Gallenfarbstoff 193
 Hamochromogen 105
 Hämoglobin im Harn 194
 — Bestimmung im Blut 307
 Hämoglobinnagar 544
 Hamolytischer Versuch 409
 Hamolytisches Serum 415
 Hemosiderin 32
 Hammelblut 413
 Hangender Tropfen 516
 Harn, Allgemeine Eigenschaften 153
 — chemische Zusammensetzung 149
 Harnentnahme 148
 — Identifizierung 151
 Harnfilamente 256
 Harnrohrensekret 270
 Harnsaure, Bestimmung 219
 — im Blut 348
 — Nachweis 152
 — im Sediment 235
 Harnsediment, mikroskopische Untersuchung 235
 Harnsteine Konkreme 231
 Harnstoff Bestimmung im Blut 347
 — im Harn 215
 — Nachweis 152
 Harnzylinder 253
 Hauteiterungen 489
 Hauttuberkulose 497
 Hefezellen im Harn 252
 — im Mageninhalt 68
 Hellersche Probe auf Blut 195
 — — auf Erweiß 167
 Herzfehlerzellen 32
 Hetschs Nährboden 512
 Hippuraure 211
 Hodgkinsche Krankheit 216.
 Hohns Nährboden 517
 Hydronephrose 470
 Indigo 245
 Indikan im Blute 338
 — im Harn 190
 Indolreaktion 123
 Influenzabacillus 18
 Inosit im Harn 181
 Ionenkonzentration 158
 Jod Nachweis im Harn 207
 Jollykörper 325
 Kahnsche Reaktion 432
 Kala Azar 381
 Kallumbestimmung im Blute 76
 Kapselfärbung 525
 Kartoffeln als Nährboden 533 51
 Kartoffelzellen 25
 Kienchhustenbacillen 50 522
 Kjeldahls Methode der Stickstoffbestimmung im Blut 341
 — — — in den Faeces 111
 — — — im Harn 218
 Kongulationsband nach Weltmann 374
 Koch Kitasatosche Methode 81
 Koch Weekache Bacillen 21
 Kochblutagar 543
 Kochprobe auf Eiweiß 168
 Kochsalzbestimmung im Blute 359
 — im Harn 221
 Kohlenhydrate in den Faeces, Bestimmung 112
 — im Harn 178
 Komplement 413.
 Komplementbindung bei Echinokokkenkrankung 443.
 — bei Gonorrhoe 442
 — bei Tuberkulose 438
 Kongopapierprobe 58
 Konjunctivalsekret 20
 Korrinchs Färbung auf Tuberkelbacillen 521
 Kopravabalsam im Harn 205
 Kotsteine 115
 Kreatinbestimmung im Blute 369
 Kreatinin, Bestimmung im Blute 369
 — Nachweis im Harn 152
 Kuhmilch Unterscheidung von Frauenmilch 284.

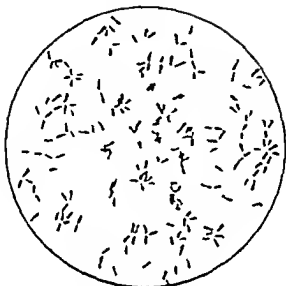
- Köhne-Weigerts Färbung von Fadenpilzen 578.
 — — Methode der Schnittfärbung 531
 Kulturmethode 531
 Labferment Labzymogen 61
 Lackmusagar nach Lents 511
 Lackmus-Acites-Zuckeragar 510
 Lackmuspilze nach Petrunchly 511
 Lactobutyrometer 521
 Langers Gram-Färbung 523
 Leberextrakt 415
 Leithinkörperchen 535
 Lepalsche Probe auf Aceton 180
 Leishmans Färbung 517
 Leishmania Donovanii 531
 — tropica 531
 Lepra bacillen 10
 Leuzin 189 247.
 Leukämien 533
 Leukocyten 520
 — Bestimmung des Prozentverhältnisses 527
 — im Blute 511
 — pathologische Formen 528
 — Zählung im Liquor cerebrospinalis 475
 Leukocytozen 534
 Levinthal-Agar 543
 Lingelshies Lackmus-Acites-Zucker Agar 510
 Linsen im Sputum 84.
 Lipase 450
 Liquid Roche 535
 Liquor cerebrospinalis 475
 Löfflers Methylblau 2
 — — Serum 2 515
 Lubenaus Nährboden 518
 Lugolsche Lösung 520
 Lumbalpunkture, Untersuchung der 475
 — — auf Syphilis 431 437
 Lungenmykose 80
 Lungensteine 80
 Lymphocyten 520
 Mageninhaltuntersuchung 55
 Makrocyten 524
 Makroskopische Untersuchung der Faeces 75
 Malachitgrünagar 125 535
 Malaria parasiten 575
 Malignes Ödem 490
 Maltose im Harn 184
 Mausons Färbungsmethode 575 578
 Mastixreaktion 490
 May Grunwaldsche Färbung 516
 Megaloblasten 524
 Meusels Klärungsreaktion 123
 Melanin im Harn 197
 Meningitis cerebrospinalis 487
 Meningokokken 14 488
 Methoden der Tierversuche 507
 Mettsche Methode der Papainbestimmung 60
 Micrococcus catarrhalis 47
 — cinereus 15
 — tetragenus 47
 Mikrocyten 524
 Mikromethoden bei Blutuntersuchung auf Alkohol 570
 — — auf Chloride 559
 — — auf Gesamtstickstoff 547
 — — auf Harnsäure 546
 — — auf Kalium 556
 — — auf Reststickstoff 541 541
 — — auf Zucker 551 554
 Mikromethoden bei Harnuntersuchung auf Aceton, Acetessigsäure 525.
 — — auf Ammoniak 526
 — — auf Harnsäure 519
 — — auf β Oxybuttersäure 520
 Mikroretention 59
 Mikroenkungsmethode 500
 Mikroskopische Untersuchung des Blutes 514
 — — des Duodenalinhaltes 72.
 — — der Faeces 81
 — — des Harnes 535.
 — — des Mageninhaltes 87
 — — des Sputums 86
 Mikrosporidien 503
 Mikrosporon, Andouini 502
 — farfur 507
 — minutissimum 503
 Milch als Nährboden 537
 Milchsäure, Bestimmung 55
 — Nachweis 59
 Milchsucker im Harn 183
 — in der Milch 232
 Milleu d'epreuve von Sebouraud 490
 Milchbrand bacillen 55, 146, 525, 491
 Milchbrandbunkel 481.
 Mixx, Methode der Salzsaurebestimmung 64.

- Modifikationen der WaR 470
 Monocyten 322
 Mucöse Färbung 521
 — Granula 36
 Mundspirochäten 13
 Murexidprobe 162
 Muskelfasern in den Faeces 82
 Myeloblasten 326
 Myelocyten 326
 Nahragar 535
 Nährboden 533
 Nährbouillon 534
 Nährgelatine 538
 Nasensekret 18
 Nelsensche Färbung 8 521
 Nematoden 86
 Neutralrotagar 122 540
 Neutrophile Leukocyten 320
 Nierenepithelien 216
 Nitrit, Nachweis 189
 Nitroindolreaktion 146
 Norm 24
 Nonne-Apeltische Reaktion 477
 Normoblasten 324
 Novy-Bacillus 490
 Nylandersche Probe 176
 Oberflächenkulturen 550
 Ochronose 186
 Ödembacillen 490
 Oidium albicans 12
 Okkultes Blut in den Faeces 10*
 Onychomykose 502
 Oppler-Boussche Stäbchen 69
 Orcinreaktion 185
 Orientbeule 584
 Osminumfixierung 511
 Ovarialeysten 470
 Oxalsaurer Kalk im Harnsediment 256
 Oxybuttersäure β 189 250 366
 Oxydasefärbung 318
 Oxyuris vermicularis 87
 Pandys Reaktion 478
 Pankreaszysten 471
 Pankreassteine 116
 Pappenheims Methode der Blut
 färbung 31
 — — der Gonokokkenfärbung 524
 Paraffineinbettung 529
 Paragglutination 397
 Parakolibacillen 282
 Paramyeloblasten 327
 Pararäuschebrandbacillen 491
 Parantendernachweis nach Földes
 born 101
 — nach Telemann 100
 Paratyphusbacillen 128 390A
 Pathologische Blutzellen 323
 Pentosen 185
 Pepsin, Pepsinogen 60
 Pepton im Harn 171
 Peptonlösung 536
 Peptonwasser 145
 Peritonitische Exsudate 479
 Peroxydasereaktion 318
 Pestbacillen 32 148
 Petruschkys Lackmusmolke 541
 Pfeiffersche Methode der Sputum
 untersuchung 34
 Pfeiffers Versuch 409
 Phenacetin im Harn 205
 Phenol im Harn 206
 Phenylhydrazinprobe 182
 Phosphate, Bestimmung im Harn, 23
 — im Hute 364
 — im Harnsediment 241
 Pilze pathogene 498
 — Tierimpfung 500
 — Züchtung 500
 Pityriasis versicolor 507
 Plasmorellen 327
 Plattenkulturen 549
 Plaut Vincentsche Angina 12
 Pleuritische Exsudate 469 478
 Pneumokokken 42
 Polkocyten 323
 Polarisation 209
 Polkörner 2
 Polychromatophilie 325
 Polyglobulie 332
 Porphyrine in den Faeces 106
 — im Harn 196
 Probefruchtstück nach Ewald 56
 Probekost nach Schmidt 74
 Probemahlzeit nach Leube-Rügel 65
 Promyelocyten 326
 Prostatasekret 258, 275
 Proteus vulgaris 266
 Pseudodiphtheriebacillen 8.
 Pseudoleukämien 335
 Pseudomucin 4 0
 Punktaussfälligkeiten 489
 — bakteriologische Untersuchung
 489
 — cytologische Untersuchung 476.
 — mikroskopische Untersuchung
 472
 Putrifaktionsgruppe 491

- Quartanaparasit 380
 Quecksilber im Harn 200
 Reaktion der Faeces 101
 — des Harnes 158.
 — des Mageninhaltes 57
 Recurrenspirillen 282
 Refraktionsbestimmung des Blutes 305
 Refraktometrische Eiweißbestimmung 305
 Reinigung der Glaser 517
 Resistenzbestimmung der roten Blutkörperchen 295
 Resistinckstoff 311
 Reticulocyten 370
 Retraction des Blutkuchens 302
 Rhamnose Vahrböden 310
 Rivalta Reaktion 470
 Rosinische Probe auf Gallenfarbstoff 193
 Rote Blutkörperchen in den Faeces 87
 — — im Harn 251
 — — Morphologie 219 322.
 — — Zählung 310
 Rotzbacillen 483
 Ruhrbacillen 137
 Rundwürmer 26.
 Saccharometer nach Kowarski 217
 Salivelläre im Harn 201
 Salmonella-Gruppe 117
 Salvarian im Harn 202.
 Salzsäure freie, Bestimmung 63.
 — — Nachweis 68
 — gebundene 64
 Salzsäuredefizit 65
 Sarrinen 68
 Saugwürmer 100
 Saureste Stübchen im Harn 284
 — — im Sputum 41
 Schichtungsquotient 56
 Schistosoma haematobium 100
 — mansoni 100
 Schleim in den Faeces 80 84
 Schnittpräparate 325
 Schottmüllers Matagar 513
 Schöffnersche Tüpfelung 378
 Schüttelkulturen 352
 Schwangerschaftsreaktion nach Achheim-Zondek 291
 Schwefelsäure im Harn 271
 Scutulum 600
 Sedimentierungsverfahren der Faeces nach Telemans 100
 — des Sputums 39
 Seifenkristalle und Schollen 83
 Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten 289
 Serundiagnostik 395
 — der Syphilis 410
 Serumphase 450
 Smegmabacillen 208
 Snappers Blutprobe 106
 Soorpels 12
 Spektroskopischer Blutnachweis in den Faeces 104
 — — im Harn 190
 Spermaflecken 278
 Spermaflüssigkeit 278
 Spermatozoen 277
 Spezifisch-dynamische Wirkung 453
 Spezifisches Gewicht des Blutes 295
 — — des Harnes 181
 Spiralzellen 68.
 Spirochaeta buccalis 12.
 — Icteroogenes 291
 — pallida 510—510
 Spirochäten bei Angina Vincenti 12
 Spornfarbung 521
 Sporotrichose 508.
 Sputumuntersuchung 5*
 Staphylokokken im Blute 289
 — in den Faeces 148
 — im Harn 209
 — im Sputum 46
 Stärke in den Faeces 81
 — im Harn 200
 Steinzellen 81
 Sterische Modifikation der WkR 450
 Stuckkulturen 532
 Stickstoffbestimmung im Blute 211
 — — bis 317
 — in den Faeces 111
 — im Harn 213.
 Stromastus ulcerosa 14
 Streptococcus haemolyticus 10 48
 — — 348
 — — mucosus 348
 — — putrificus 349
 — — viridans 349
 Streptokokken im Blute 344
 — in den Faeces 149
 — im Harn 263
 — im Rachen 10
 — im Sputum 45
 Streptotricheen 53
 Sulfat im Harn 211

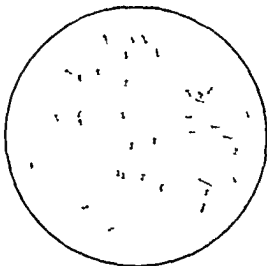
- Sulfosalicylsäureprobe 10
 Sykosis 504
 Taenia nana 98
 — saginata 98.
 — solium 91
 Takata Ara Reaktion im Blute 458.
 — im Liquor 488
 Tarozzi's Verfahren 534
 Telemann's Sedimentierungsver-
 fahren 100
 Tellurnährboden 515
 Tertianaparasit 377
 Tetanusbacillen 493.
 Tetrathionatbouillon 512
 Thielscher Nährboden 537
 Thormalensche Reaktion 197
 Tierversuch auf Tuberkelbacillen
 im Blut 394
 — — im Harn 269
 — — im Sputum 41
 Tierversuchmethoden 557
 Töpfersche Methode zur Bestim-
 mung der freien Salzsäure 54
 Transsudate 469
 Traubenzucker im Blute 351
 — im Harn 16 209
 Trichina spiralis 100
 Trichocephalus dispar 98
 Trichomonas intestinalis 92
 — vaginalis 276
 Trichophyten 501
 Tripelphosphate 242
 Tripperfäden 257 275
 Trockensubstanz der Faeces 111
 — des Harnes 161
 Trommersche Probe 178
 Tropenfleberparasit 388
 Trübungsreaktionen, siehe
 Flockungsreaktionen.
 Trypanosomen 383
 Trypsin in den Faeces 109
 Trypsinbouillon 519
 Tuberkelbacillen im Blute 394
 — im Conjunctivalsekret 20
 — in den Faeces 147
 — Färbung 520 532
 — im Harn 267
 — im Nasensekret 19
 — im Sputum 38—42
 — Züchtung 40
 Tuberkulose der Haut 497
 Tuscheverfahren nach Barri 512
 Typen der Diphtheriebacillen 5
 — der Enterokokken 265
 — der Pneumokokken 44
 Typhusbacillen im Blute 390
 — in den Faeces 117—125
 — Gang der Faecesuntersuchung
 181
 — im Harn 264
 — Wachstum auf speziellen Nähr-
 boden 118
 — — biologische Merkmale 121
 Tyrosin 189 243
 Übergangsformen 329
 Urate 237
 Ureometer nach Kowarski 216
 Urobilin, Urobilinogen in den Faeces
 108
 — — Bestimmung 108.
 — — im Harn 192
 Urochromogenreaktion nach Weiß
 199
 Urotropin 205
 Uterinssekret 276
 Veronal im Harn 206.
 Vincent'sche Angina 18
 Viskosität des Blutes 203
 Vitalfärbung 518
 Wassermann'sche Reaktion 412
 Wasserstoffionenkonzentration 158
 Weichbrodt's Reaktion 18
 Well Felix'sche Reaktion 408
 Weilsche Krankheit 394
 Weiß, Doppelfärbung 522
 Weiß'sche Urochromogenreaktion 199
 Weltmann's Koagulationsband 374
 Westergren's Senkungsreaktion 299
 Widal'sche Reaktion 402
 — bei Bang-Infektion 408
 — — bei Meningitis epidemica 408
 — — bei Ruhr 407
 Xanthin 245
 Xanthinsteine 233.
 Xanthochromie 472
 Xanthoproteinprobe 285
 Xerosebacillen 6
 Zählung der Blutkörperchen 510
 Zelloidin, Einbetten in 530 533.
 Zellulose 85
 Zerebrospinalflüssigkeit 41 475
 Ziehlesches Carbofuchsin 519
 Ziehl-Neelsen'sche Färbung auf Tu-
 berkelbacillen 520
 — — in Schnitten 533
 Zuckerbestimmung im Blute 351
 — im Harn 176, 209
 Zylinder im Harn 253.
 Zylindroide 265
 Zytin 244

Fig 1



Dicht benachbarte
Färbung mit verschiedenen Färbungen

Fig 2

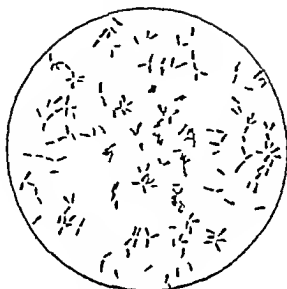


Spärliche
Färbung mit verschiedenen Färbungen

- Sulfosalicylsäureprobe 170
 Sykosis 504
 Taenia nana 96
 — saginata 96
 — solium 91
 Takata Ara Reaktion im Blute 453.
 — im Liquor 483
 Tarozzi's Verfahren 534
 Telemann's Sedimentierungsver-
 fahren 100
 Tellurnährboden 515
 Tertianaparasit 3
 Tetanusbacillen 493
 Tetrathionatbouillon 54*
 Thielscher Nährboden 53
 Thormälensche Reaktion 107
 Tierversuch auf Tuberkelbacillen
 im Blut 394
 — — im Harn 269
 — — im Sputum 41
 Tierversuchsmethoden 557
 Töpfer'sche Methode zur Bestim-
 mung der freien Salzsäure 64
 Transsudate 469
 Traubenzucker im Blute 351
 — im Harn 1 & 209
 Trichina spiralis 100
 Trichocephalus dispar 98
 Trichomonas intestinalis 92
 — vaginalis 276
 Trichophyten 504
 Tripelphosphate 212
 Tripperfäden 257 275
 Trochensubstanz der Faeces 111
 — des Harnes 161
 Trommer'sche Probe 1 8
 Tropenfieberparasit 388
 Trübungsreaktionen, siehe
 Flockungsreaktionen.
 Trypanosomen 383
 Trypsin in den Faeces 109
 Trypsinbouillon 549
 Tuberkelbacillen im Blute 394
 — im Conjunctivalsekret 20
 — in den Faeces 147
 — Färbung 520 532
 — im Harn 267
 — im Nasensekret 18
 — im Sputum 36—42
 — Züchtung 40
 Tuberkulose der Haut 497
 Tuscheverfahren nach Barni 512
 Typen der Diphtheriebacillen 5
 — der Enterokokken 265
 — der Pneumokokken 44
 Typhusbacillen im Blute 390
 — in den Faeces 117—123
 — Gang der Faecesuntersuchung
 131
 — im Harn 264
 — Wachstum auf speziellen Nähr-
 böden 118
 — — biologische Merkmale 121
 Tyrosin 189 213.
 Übergangsformen 322
 Urate 237
 Ureometer nach Kowarski 15.
 Urobilin, Urobilinogen in den Faeces
 108.
 — — Bestimmung 108
 — — im Harn 192
 Urochromogenreaktion nach Weiß
 199
 Urotropin 205
 Uterinsekret 2 6
 Veronal im Harn 206
 Vincent'sche Angina 12
 Viskosität des Blutes 303
 Vitalfärbung 318
 Wassermann'sche Reaktion 412
 Wasserstoffionenkonzentration 159
 Weichbrodt's Reaktion 478
 Weil-Felix'sche Reaktion 405
 Weiß'sche Krankheit 394
 Weiß, Doppelfärbung 522.
 Weiß'sche Urochromogenreaktion 199
 Weltmann's Koagulationsband 374
 Westergren's Senkungsreaktion 299
 Widalsche Reaktion 402
 — bei Bang-Infektion 406.
 — — bei Meningitis epidemica 408.
 — — bei Ruhr 407
 Xanthin 245
 Xanthinsteine 233
 Xanthochromie 4 2
 Xanthoproteinprobe 285
 Xerobacillen 6.
 Zählung der Blutkörperchen 310
 Zelloidin, Einbetten im 530 533.
 Zellulose 83
 Zerebrospinalflüssigkeit 4 1 475.
 Ziehlesches Carbofuchsin 519
 Ziehl-Neelsen'sche Färbung auf Tu-
 berkelbacillen 390
 — — in Schnitten 532.
 Zuckerbestimmung im Blute 351
 — im Harn 1 6 209
 Zylinder im Harn 253.
 Zylindroide 255
 Zystin 6

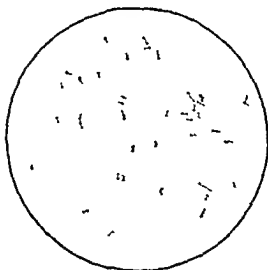
- Sulfosalicylsäureprobe 170
 Sykosis 504
 Taenia nana 90
 — saginata 96
 — solium 94
 Takata Ara Reaktion im Blute 453
 — im Liquor 483
 Tarozzi Verfahren 554
 Telemanns Sedimentierungsverfahren 100
 Tellurnährboden 545
 Tertianaparasit 377
 Tetanusbacillen 493
 Tetrathjonatbouillon 512
 Thierscher Nährboden 537
 Thormalensche Reaktion 187
 Tierversuch auf Tuberkelbacillen
 im Blut 394
 — — im Harn 269
 — — im Sputum 41
 Tierversuchsmethoden 557
 Töpfersche Methode zur Bestimmung der freien Salzsäure 64
 Transsudate 469
 Traubenzucker im Blute 351
 — im Harn 176, 209
 Trichina spiralis 100
 Trichocephalus dispar 98
 Trichomonas intestinalis 92
 — vaginalis 276
 Trichophytie 504
 Tripelphosphate 218
 Tripperläden 257 276
 Trockensubstanz der Faeces 111
 — des Harnes 181
 Trommersche Probe 178
 Tropenfieberparasit 388
 Trübungsreaktionen, siehe
 Flockungsreaktionen
 Trypanosomen 353
 Trypsin in den Faeces 109
 Trypsinbouillon 549
 Tuberkelbacillen im Blute 394
 — im Conjunctivalsekret 20
 — in den Faeces 147
 — Farbung 520 532
 — im Harn 367
 — im Nasensekret 19
 — im Sputum 38—42
 — Züchtung 40
 Tuberkulose der Haut 497
 Tuscheverfahren nach Burri 512
 Typen der Diphtheriebacillen 5
 — der Enterokokken 365
 — der Pneumokokken 44
 Typhusbacillen im Blute 390
 — in den Faeces 117—123
 — Gang der Faecesuntersuchung 131
 — im Harn 264
 — Wachstum auf speziellen Nährböden 118
 — — biologische Merkmale 121
 Tyrosin 189 243
 Übergangsformen 322
 Urate 257
 Ureometer nach Komaraki 215
 Urobilin Urobilinogen in den Faeces 108
 — — Bestimmung 108
 — — im Harn 182
 Urochromogenreaktion nach Weiß 199
 Urotropin 205
 Uterussekret 276
 Veronal im Harn 206.
 Vincentsche Angina 12
 Viskosität des Blutes 503
 Vitalfarbung 518
 Wassermannsche Reaktion 412
 Wasserstoffionenkonzentration 156
 Weichbrodts Reaktion 178
 Weiß Felixsche Reaktion 406
 Weilsche Krankheit 394
 Weiß, Doppelfarbung 522
 Weilsche Urochromogenreaktion 189
 Weltmanns Koagulationsband 374
 Westergrens Senkungsreaktion 399
 Widalsche Reaktion 402
 — bei Bang Infektion 406.
 — — bei Meningitis epidemica 408.
 — — bei Ruhr 407
 Xanthin 245
 Xanthinsteine 233.
 Xanthochromie 472
 Xanthoproteinprobe 268
 Xerosebacillen 6
 Zählung der Blutkörperchen 510
 Zelloidin, Einbetten in 530 533.
 Zellulose 85
 Zerebrospinalflüssigkeit 471 475
 Ziehlsches Carbolfuchsin 518
 Ziehl-Neelsenische Farbung auf Tuberkelbacillen 520
 — — in Schnitten 533
 Zuckerbestimmung im Blute 361
 — im Harn 178 209
 Zylinder im Harn 253
 Zylindroide 256
 Zystin 244

Fig 1



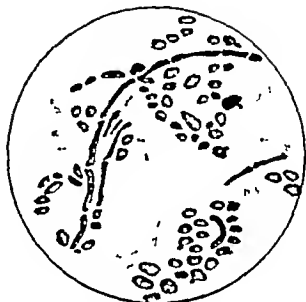
Dich beobachtet an
Färbung mit verd. anilin f. c. in

Fig 2



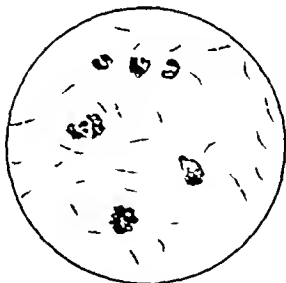
Dich beobachtet an
Färbung mit verd. anilin f. c. in

Fig 1



Soorpilz in einem Hahbelag
Färbung mit verdünntem Fuchsin

Fig 2



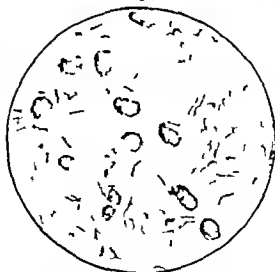
Ausstrichpräparat von *Aspergillus* sp.
Färbung nach Gram

Fig 1



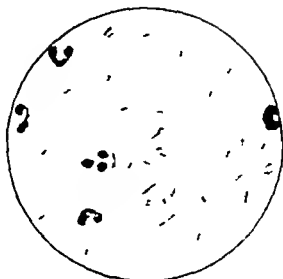
Elastische Fasern im Auswurf.

Fig. 2.



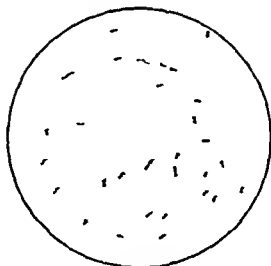
Abstrichpräparat aus Sputum mit zahlreichen Tuberkelbacillen
Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Pl. 1



Die in A. Men im Spat m.
für g m t r m d ch

Pl. 2



Die in A. Men im Spat m.
für g m t r m d ch

Fig 1



Ausstrichpräparat aus Sputum m. *Vibrio cholerae* s.
Färbung mit verd. Carbol-Fuchsin

Fig 2

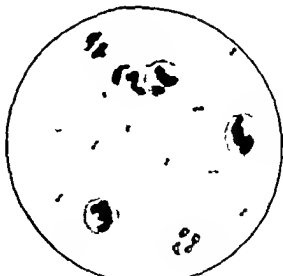
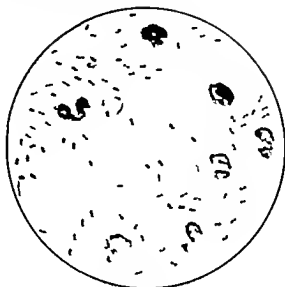


Fig 1



Peribacillen

Fig 2

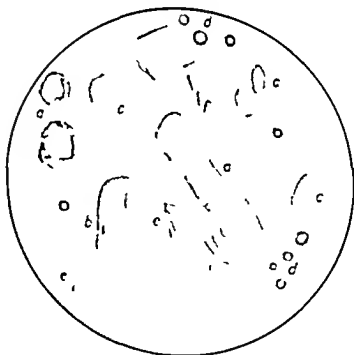
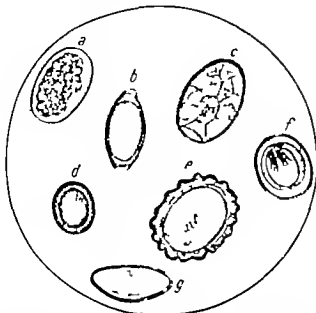


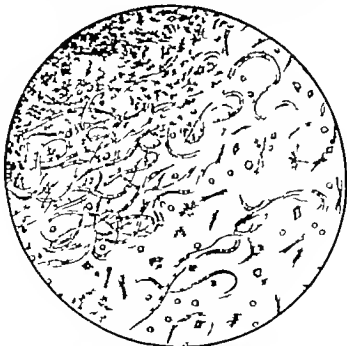
Fig 1



Parasiten:

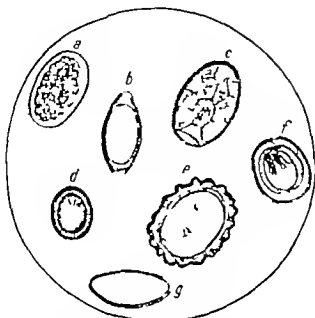
- a) *Anchylostoma duodenale*, b) *Trypanoplasus dispar*, c) *Bothryocéphalus latus*, d) *Taenia saginata*,
e) *Ascaris lumbricoides*, f) *Taenia nana*, g) *Oxyuris vermicularis*.

Fig 2



Präparat aus einem Gewebeflecken im Kontext des Parasiten

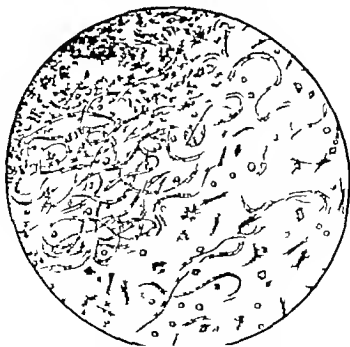
Fig 1.

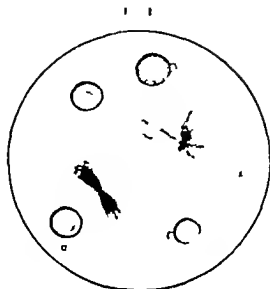


Parasiten

a *Ancylostoma duodenale*, b *Trypanosoma dispar*, c *Bothryoccephalus latum*, d *Taenia saginata*,
e *Ascaris lumbricoides*, f *Taenia mini*, g *Oxyuris vermicularis*.

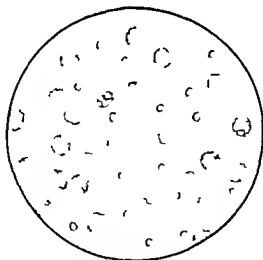
Fig 2





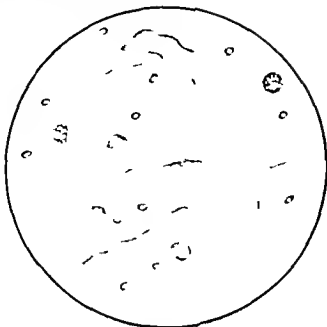
Leuc. & Thromb.

Fig 2



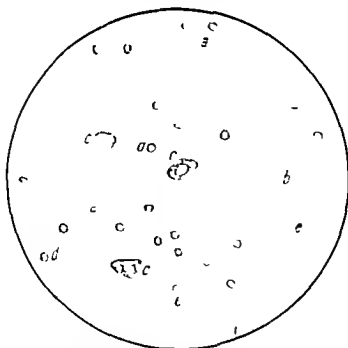
Leukocyten und rote Blutkörperchen

Fig 1



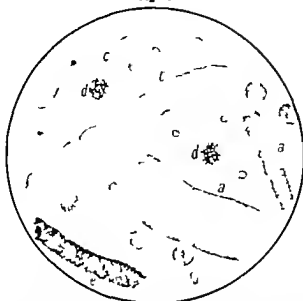
Tafel des 10

Fig 2



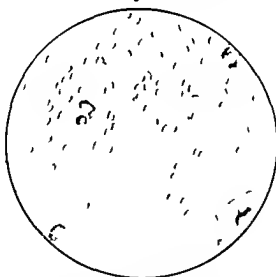
Hyaline Zylinder *b* Zylindroid, *c* Nierenepithellen, *d* rote Blutkörperchen (zum eränderen),
Dunkelzellen

Fig 1.



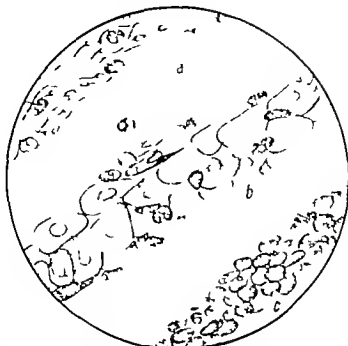
a Granulierte, b wackartige, hyaline Zylinder d Pettkornchenzellen,
e mit Blaufarbstoff imprägnierter granularer Zylinder

Fig 2



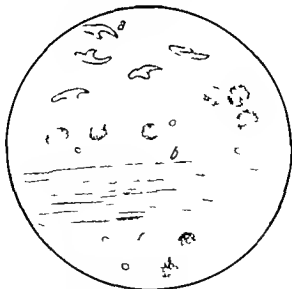
Cholera vibriolen.
(Ausstrichpräparat aus einer Schleimflocke der Faeces)
Färbung mit verdünntem Carbolfuchsin.

Fig. 1



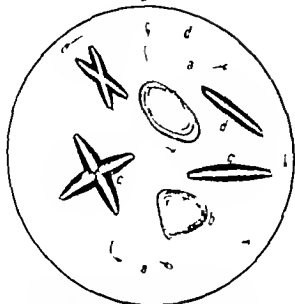
Harnblase aus a Spermatozoen, b Epithelen und Leukozyten, c nur aus Leukozyten.

Fig. 2.



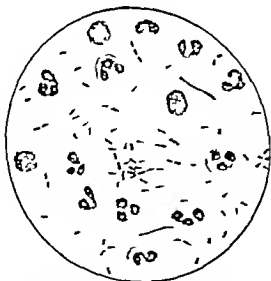
Echinokokknahen, b Echinokokkusmembran nach Bearbeitung mit Natronlauge

Fig 1



a Spermatozoen, b Prostatakörperchen (Corpora amylicata), c Sperminkristalle
d Leucitropfen.

Fig 2



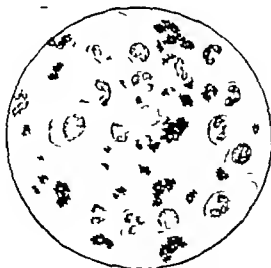
Anstrichpräparat aus Harnsediment Coll.-Cystitis
Färbung mit verdünntem Methylblau

Fig 1.



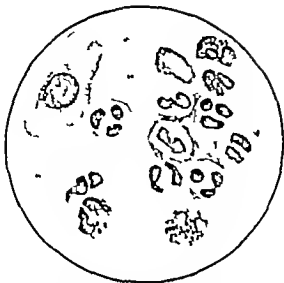
Abstrichpräparat aus Harnsediment mit zahlreichen Tuberkelbacillen
Färbung nach Ziehl-Neelsen

Fig 2



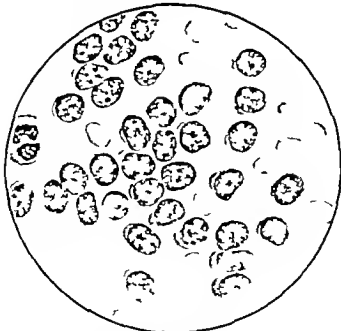
Abstrichpräparat aus Harnsediment Staphylokokkencystitis.
Färbung nach Gram

Fig 1.

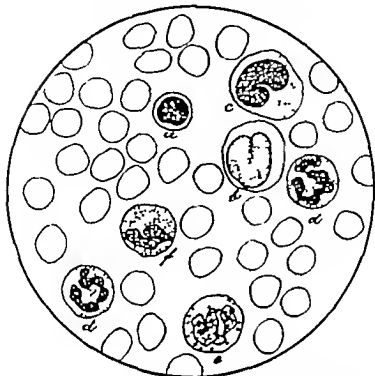


Sekretärtrakt mit Oocysten.
Färbung mit verdünntem Methylblau

Fig 2



Lymphgefäß Leukozyten (Leukämie)



a Lymphocyt, b große mononucleäre Zelle (Körblich), c Übergangsform nucleäre neutrophile Leukocyten, d basophiler polynucleärer Leukocyt (Mastzelle), f eosinophiler polynucleärer Leukocyt.

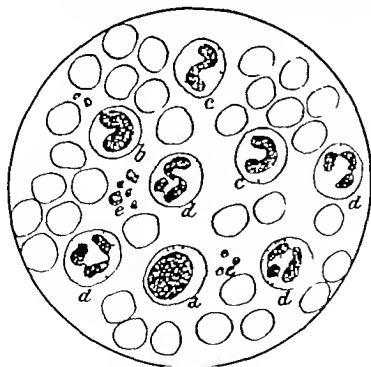
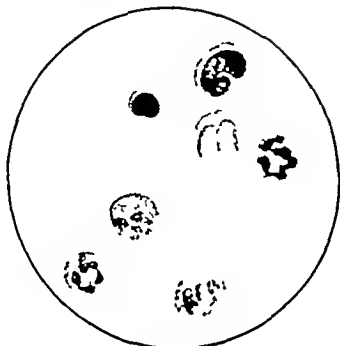


Fig. 1



Ante. 1 P. L. Hüttinger, Leipzig

Fig. 2

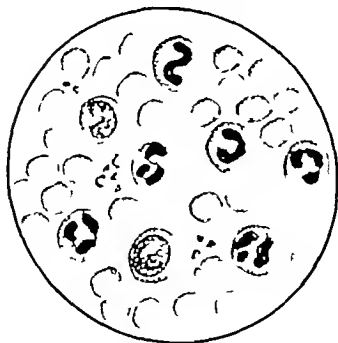
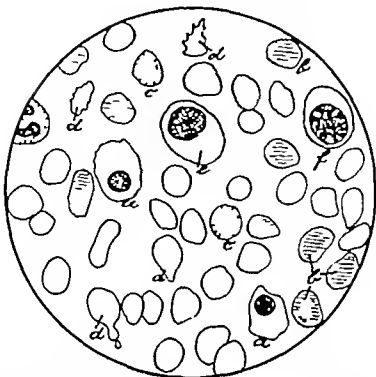


Fig 1



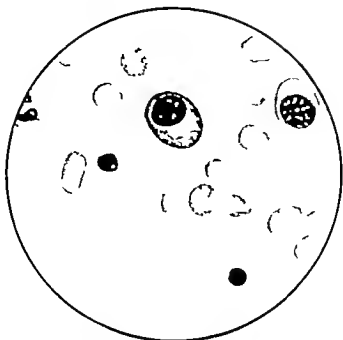
a Megakaryocyten, b polychromatophile Erythrocyten, c punktierte Erythrocyten, d Poikilocyten, e Förmliche Reizungsform, f polychromatophiler Megakaryoblast.

Fig 2



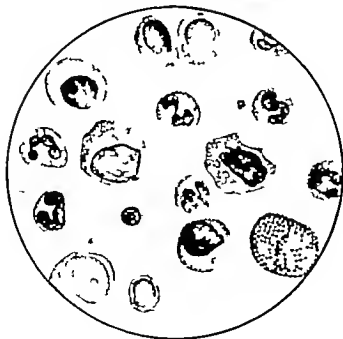
b Neutrophile Myelozyten, c eosinophiler Myelozyt, d polymorphonukleäre neutrophile Leukozyten, e

Fig 1



Peritriche Anisole. Färbung Leishman

Fig 2.



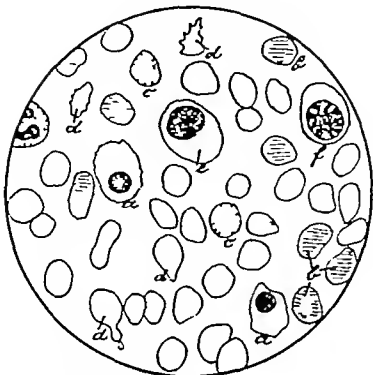


Fig. 1

a Monozyt, b polychromatische Erythrocyten, c punktierte Erythrocyten, d Polkilocyten, e Färbische Reizungsform, f polychromatischer Monozyt.

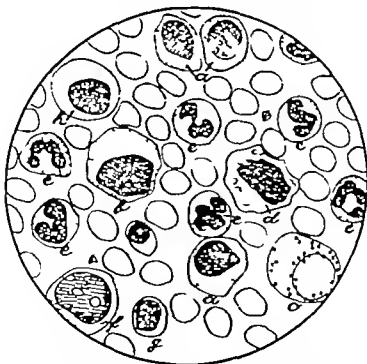
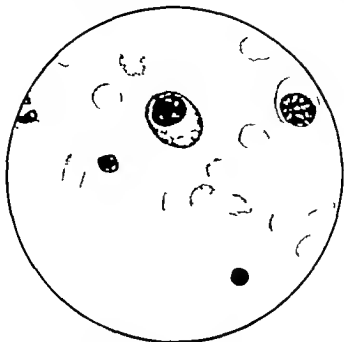


Fig. 2

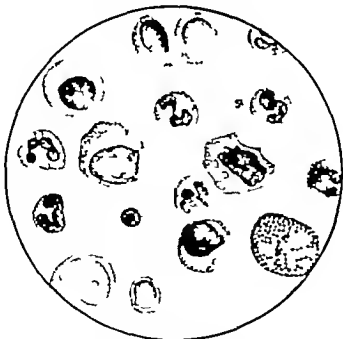
a b Neutrophile Leukozyten, c eosinophiler Leukozyt, d A, f Monozyt, e polychromatischer neutrophiler Leukozyt, g Lymphozyt.

Fig 1



Peripheres Auklele Färbung Leishman

Fig 2

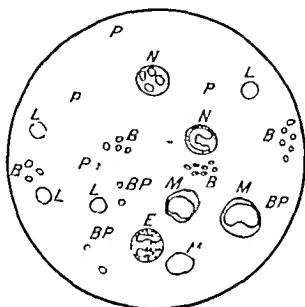


Myelogene Leukämie Färbung Leishman

Erklärung zur nebenstehenden Tafel XIX

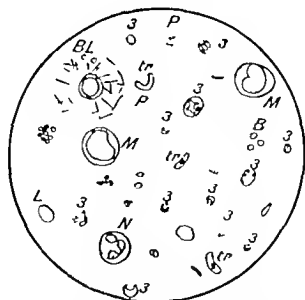
Dicker Tropfen

Fig. 1



N Neutrophiler Leukocyt, E eosinophiler Leukocyt, M Monocyt, L Lymphocyt, B Blutplättchen
P polychromatophiler Erythrocyt, BP basophiler punktierter Erythrocyt

Fig. 2



N Neutrophiler Leukocyt, E eosinophiler Leukocyt, M Monocyt, L Lymphocyt, B Blutplättchen
P polychromatophiler Erythrocyt, BP basophiler punktierter Erythrocyt

Fig. 1

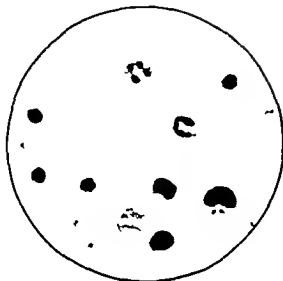
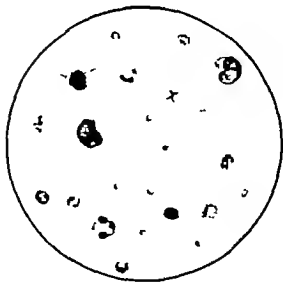
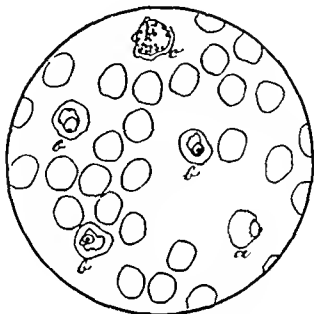


Fig. 2



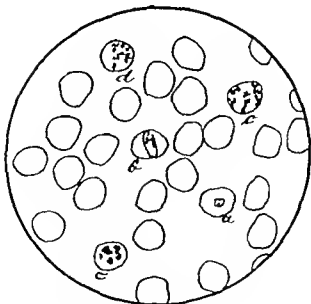
Erklärung zur nebenstehenden Tafel XX

Fig 1



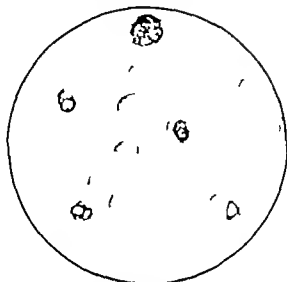
a Großer Ring & amöboiden Formen, c Sporulationsform.

Fig 2



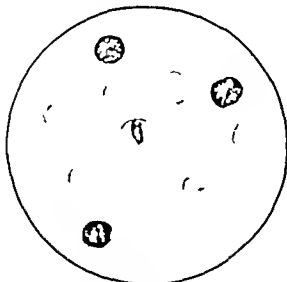
a Kleiner Ring, b Bandform c d Teilungsformen

Fig. 1

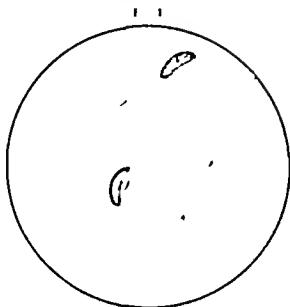


Malaria tertiana
Färbung nach Giemsa

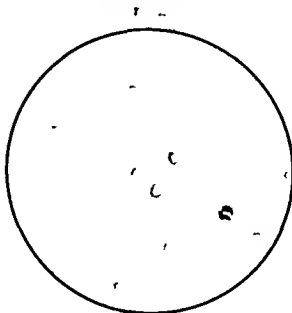
Fig. 2



Malaria quartana
Färbung nach Giemsa



Wasserf. Hefen - 1000x 1 1
100 100 100



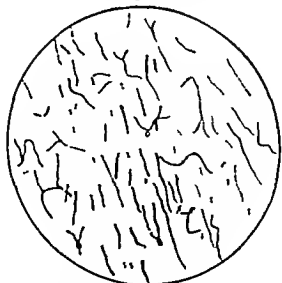
1 1

Fig 1



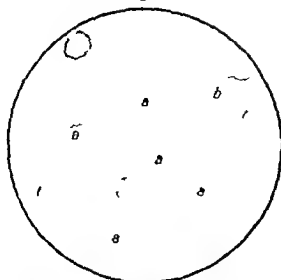
Versärgelokken im Sediment eines Lambdajonkales
Färbung mit verdünntem Methylenblau

Fig 2



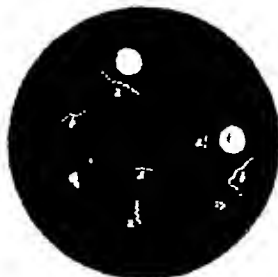
Aktinomycesfäden im Abszesseller
Färbung nach Gram

Fig 1



Spirochaeta pallida (a) und *refringens* (b).
Färbung nach Giemsa

Fig 2



Trockenpräparat nach Barry/
Spirochaeta pallida (a) und *refringens* (b).

Erklärung zur nebenstehenden Tafel XXV

Ad II. Das Methaemoglobinspektrum zeigt außer den abgebildeten charakteristischen Streifen noch drei andere bläuliche Streifen von denen zwei mit den Oxyhaemoglobinstreifen übereinstimmen. Das Methaemoglobinspektrum läßt sich aus verdünntem Blut durch Zusatz einiger Tropfen konzentrierter Ferricyankalilösung darstellen. Es unterscheidet sich von dem Haematinpektrum dadurch, daß es sich nach Zusatz von reduzierenden Substanzen in Haemoglobin umwandelt während aus Haematin dabei Haemochromen entsteht.

Ad IV. Das Spektrum des Kohlenoxydhaemoglobins unterscheidet sich von dem des Oxyhaemoglobins dadurch, daß es auf Zusatz von reduzierenden Mitteln (Schwefelammon) unverändert bleibt und nicht in reduziertes Haemoglobin übergeht.

